Sr

Biochemische Zeitschrift.

Beiträge zur chemischen Physiologie und Pathologie.

Herausgegeben von

E. Buchner-Würzburg, **P. Ehrlich**-Frankfurt a. M., **F. Hofmeister**-Straßburg i. Els., **C. von Noorden**-Wien, **E. Salkowski**-Berlin, **N. Zuntz**-Berlin

unter Mitwirkung von

Redigiert von

C. Neuberg-Berlin.

Zwei[redacted]undfünfzigster Band.

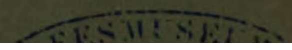
1913.





Berlin.
Verlag von Julius Springer.
1913.






CHEMISTR
E.C. KOSTER BOEKBINDER


LEESMUSEUM
AMSTERDAM.


M

Biochemische Zeitschrift.

Beiträge zur chemischen Physiologie und Pathologie.

Herausgegeben von

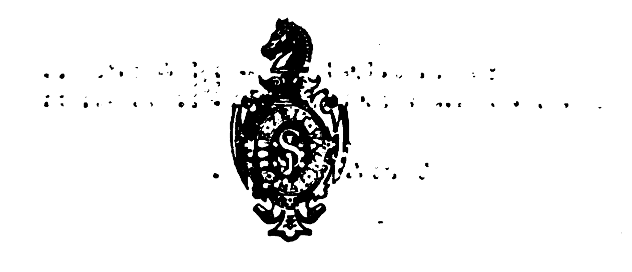
E. Buchner-Würzburg, **P. Ehrlich**-Frankfurt a. M., **F. Hofmeister**-Straßburg i. Els., **C. von Noorden**-Wien, **E. Salkowski**-Berlin, **N. Zuntz**-Berlin

unter Mitwirkung von

Redigiert von

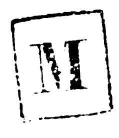
C. Neuberg-Berlin.

Zweiundfünfzigster Band.



Berlin.
Verlag von Julius Springer.
1913.





Druck von Oscar Brandstetter in Leipzig.

Inhaltsverzeichnis.

Zur Kritik der Zuckerbestimmungsmethode von Ivar Bang.

Von

Zennoshin Hatta.

(Aus dem Medizinisch-chemischen Institut der Universität Tokio.)

(Eingegangen am 19. Mai 1913.)

Die Methode der Zuckerbestimmung nach Ivar Bang[1]), bei der bekanntlich der Kupferüberschuß nach der stattgefundenen Reduktion durch Zucker mittels Hydroxylamin in der Kälte zurücktitriert wird, und das als Reduktionsprodukt auftretende Kupferrhodanür durch im Überschuß zugesetztes Rhodankalium im Momente der Entstehung farblos gelöst wird, scheint wegen der Bequemlichkeit der Ausführung in medizinischen Kreisen mannigfache Anwendung gefunden zu haben. Nach den Angaben von Lavesson[2]), Bang und Bohmanson[3]), Andersen[4]), Dilg[5]) sowie Bohmanson[6]) soll die neue Methode für reine Traubenzuckerlösung sehr gut übereinstimmende Resultate geben. Funk[7]), D. Takahashi[8]), E. Frank und A. Bretschneider[9]), B. Oppler und P. Rona[10]), L. Borchard[11]) und B. Oppler[12]) sind dagegen der Meinung, daß die Bangsche Methode zu hohe Werte gibt. Da indes über

[1]) Ivar Bang, diese Zeitschr. 2, 271, 1907.

[2]) Lavesson, diese Zeitschr. 4, 40.

[3]) Bang und Bohmanson, Zeitschr. f. physiol. Chem. 63, 443.

[4]) Andersen, diese Zeitschr. 15, 76.

[5]) Bohmanson, diese Zeitschr. 19, 281.

[6]) Dilg, Münch. med. Wochenschr. 55. Jg., 1274.

[7]) Funk, Zeitschr. f. physiol. Chem. 56, 510.

[8]) D. Takahashi, diese Zeitschr. 37, 30.

[9]) E. Frank und A. Bretschneider, Zeitschr. f. physiol. Chem. 71, 157.

[10]) B. Oppler und P. Rona, diese Zeitschr. 13, 121.

[11]) L. Borchard, Zeitschr. f. physiol. Chem. 55, 257.

[12]) B. Oppler, Zeitschr. f. physiol. Chem. 64, 393.

die Genauigkeit der genannten Methode, außer den Angaben von H. Jessen-Hansen[1]) eine eingehende systematische Prüfung noch nicht vorzuliegen scheint, so habe ich auf Veranlassung und unter der Leitung von Prof. M. Kumagawa einige Untersuchungen hierüber angestellt, deren Resultate hier mitgeteilt werden.

Hierzu habe ich Kupfer- und Hydroxylaminlösung genau nach der Vorschrift[2]) von Bang hergestellt und ihre Wertbestimmung folgendermaßen ausgeführt.

I. Kupferlösung. Chemisch reines Kupfersulfat von Merck wurde zuerst durch Behandlung mit Salpetersäure nach Schmidt[3]) von Spuren beigemengten Eisens befreit. Alsdann wurden die Krystalle mehrmals aus Wasser umkrystallisiert und staubgeschützt so lange in der Luft getrocknet, bis dieselben keine Gewichtsänderung mehr zeigten. Davon wurden genau 166,67 g abgewogen und in Wasser gelöst. Die Lösung wurde in einem bei 18° geeichten Meßkolben auf 1 l aufgefüllt. Der Kupfergehalt dieser Lösung wurde an je 5 ccm als Kupferoxyd[4]) festgestellt. Bei jeder Bestimmung habe ich Erhitzung und Wägung des Tiegelinhaltes wiederholt, bis das Gewicht konstant wurde. 4 Bestimmungen haben ergeben:

Tabelle I.

Bestimmung des Kupfergehaltes als Kupferoxyd.

Versuchsnummer	Verwendete Menge d. Kupferlösung ccm	Gefundenes Kupferoxyd g	Kupfergehalt der Lösung als $CuSO_4 . 5 H_2O$ berechnet g/dl[5])
1	5	0,26 470	16,613
2	5	0,26 650	16,726
3	5	0,26 530	16,651
4	5	0,26 570	16,676
Summa . .		1,06 220	
Mittel . . .		0,26 555	16,666

Demnach: Gefunden 0,265 55 g = 16,666 g/dl
Verlangt 0,265 56 „ = 16,667 „

Von dieser Kupferlösung wurden genau 150 ccm abpipettiert. Dieselben wurden in einem Meßkolben von 2 l Rauminhalt hineingebracht, in dem bereits der Reihe nach 100 g Kaliumbicarbonat, 500 g Kalium-

[1]) H. Jessen-Hansen, diese Zeitschr. 10, 249.
[2]) I. Bang, diese Zeitschr. 32, 443.
[3]) Schmidt, Pharmaz. Chem. 1, 1000, 1907.
[4]) Treadwell, Kurzes Lehrbuch der Chem. II, S. 123.
[5]) „g/dl" (= Gramm/Deziliter) gibt g-Substanz in 100 ccm an.

carbonat und 400 g Rhodankalium[1]) in ca. 1300 ccm aufgelöst worden sind. Nachdem die schwache CO_2-Entwicklung vorbei war (Temperatur 18°), wurde der Meßkolben mit Wasser genau bis zur Marke aufgefüllt, gut geschüttelt und gleich abfiltriert. Der auf dem Filter zurückgebliebene geringe Niederschlag wurde anfangs mit dem Filtrate der Kupferlösung, dann ganz gründlich mit Alkohol (96%) und schließlich mit Äther ausgewaschen. Prüfung dieses Niederschlages auf Kupfer fiel vollkommen negativ aus. Demnach enthält die von mir hergestellte Bangsche Kupferlösung in 2 l genau 25 g Kupfersulfat ($CuSO_4 . 5 H_2O$), wie es Bang vorschreibt.

II. Hydroxylaminlösung. Das Hydroxylaminsulfat von Merck wurde wiederholt aus absolutem Alkohol umkrystallisiert und die Krystalle im Vakuumexsiccator über konz. H_2SO_4 bis zum konstanten Gewichte getrocknet. Das so gereinigte Salz schmolz unter teilweiser Zersetzung bei 184 bis 185°.

Dieser Befund weicht von den Angaben anderer Autoren etwas ab. So soll der Schmelzpunkt des Salzes nach Lenssen[2]) bei 170° und nach Preibisch[3]) bei 140° liegen. Dessenungeachtet wurde von dem Salze auf indirektem Wege stets ein wenig mehr als 6,55 g bis auf $^1/_{10}$ mg genau abgewogen, weil das Salz hygroskopisch ist. Vorher wurden 200 g Rhodankalium in einem Meßkolben von 2 l Rauminhalt gelöst. Nachdem die hierdurch bewirkte Temperaturerniedrigung ausgeglichen war, wurde das Hydroxylaminsulfat hinzugefügt, mit Wasser bis zur Marke aufgefüllt und gut durchgemischt. Alsdann wurde genau soviel der berechneten Menge Wasser extra zugesetzt, als derjenigen Menge des Salzes entspricht, die mehr als 6,55 g beträgt, und nochmals gut durchgemischt. Die genaue Feststellung der so hergestellten Hydroxylaminlösung an wahren Salzgehalt machte große Schwierigkeiten. Zuerst habe ich als Vorprobe alle bekannten Bestimmungsmethoden mit reiner Hydroxylaminsulfatlösung der Reihe nach durchprobiert.

Die Bestimmung der Schwefelsäure des Salzes [durch Alkalimetrie[4]) oder als $BaSO_4$ oder Stickstoffbestimmung[5]) des unter Zuckerzusatz verbrannten Salzes nach Kjeldahl führten nicht zum gewünschten Ziele. Bestimmung der Reduktionskraft der Hydroxylaminlösung gegen Fehlingsche Kupferlösung unter Durchleitung von Wasserstoffgas nach Andersen[6]) ergab nach meiner Nachprüfung keinen bestimmten Wert, indem die Selbstreduktion der Fehlingschen Lösung infolge des langdauernden Kochens bei gleichzeitiger Zuleitung des Wasserstoffgases

---

[1]) Das von mir benutzte Rhodankalium puriss. ist zu diesem Zwecke durch Extrapost über Sibirien von E. Merck zu uns geschickt worden.

[2]) Abegg, Handb. d. anorganischen Chem. 3, 111.

[3]) Abegg, Handb. d. anorganischen Chem. 3, 111.

[4]) Treadwell, Kurzes Lehrb. d. Chem. II, S. 410.

[5]) Nach Kakinchis Vorschlag.

[6]) Andersen, diese Zeitschr. 15, 78.

immer weiter fortschreitet. Titration der Hydroxylaminlösung mittels Kaliumpermanganats nach Raschig[1]) zeigte ebenfalls in den einzelnen Proben große Schwankungen.

Am Ende habe ich versucht, die Reduktionskraft der Hydroxylaminlösung nach der Pavy-Kumagawa-Sutoschen Zuckerbestimmungsmethode festzustellen, indem ich zur Reduktion des Kupferoxydes an Stelle der Zuckerlösung die zu prüfende Hydroxylaminlösung selber benutzte.

Wertbestimmung der Hydroxylaminlösung nach der Pavy-Kumagawa-Sutoschen Methode.

Da die Titrationsmethode nach Pavy-Kumagawa-Suto für reine Traubenzuckerlösung sehr genaue Resultate gibt, so habe ich versucht zu prüfen, ob sich die genannte Methode auch zur Feststellung der Reduktionskraft der Hydroxylaminlösung mit gleichem Erfolge verwenden läßt. Die Titration geschah genau nach der Vorschrift von Kumagawa-Suto[2]), wie für die Zuckerbestimmung, nur mit dem Unterschiede, daß an Stelle der Zuckerlösung die zu prüfende Hydroxylaminlösung eingesetzt wurde. Über die Titration schicke ich hier einige Bemerkungen voraus. Von der Kupferlösung (mit der Konzentration von 4,278 g $CuSO_4 . 5\,H_2O$ pro 1 l) und der ammoniakalischen Seignettesalzlösung wurden für jede Probe je 20 ccm in den Reduktionskolben hineingebracht (eine Probe genau 0,01 g Traubenzucker entsprechend) und zuerst mit voller Flamme des Mikrobrenners bis zum Sieden erhitzt. Nachdem die Luft im Kolben völlig herausgetrieben worden ist, wird bei kleiner Flamme (etwa bohnengroß) die zu prüfende Hydroxylaminlösung aus der Bürette in einem Tempo von 96—120 Tropfen pro Minute hineingeträufelt. Wenn sich die Kupferlösung im Reduktionskolben zum großen Teil entfärbt und nur noch ganz eine schwach hellblaue Farbe zeigt, wird der Zusatz der Hydroxylaminlösung unterbrochen und 1 Minute beobachtet. In den meisten Fällen tritt dann die vollkommene Entfärbung ein. Das ist die Endreaktion. Jetzt wird die Flamme entfernt. Ist dagegen nach einer Minute noch eine Spur Blaufärbung zurückgeblieben, so wird noch 1 Tropfen Hydroxylaminlösung zugesetzt und das Kochen weiter noch eine Minute fortgesetzt.

Diese Prozedur wird bis zur vollkommenen Entfärbung wiederholt. Längeres Kochen als eine Minute nach dem letzten Zusatz ist möglichst zu vermeiden.

Wenn man auf diese Weise die Titration vornimmt, so tritt die Endreaktion stets ganz scharf auf. Dies wurde durch mehrere Extraproben festgestellt. Ist die Endreaktion überschritten, so tritt ganz schwache Gelbfärbung gerade so ein, wie bei der Traubenzuckerlösung.

---

[1]) Raschig, Treadwell, Kurzes Lehrb. d. Chem. II, S. 438.

[2]) Kumagawa-Suto, Salkowski-Festschrift 1904, S. 211; T. Tinoschita, diese Zeitschr. 9, 219, 1908; C. Neuberg, Der Harn. I. Teil. 1911. S. 393.

Die Titrierung wurde zuerst mit der Hydroxylaminsulfatlösung von 0,5 g/dl, dann mit der von 0,25 g/dl ausgeführt. Die Ergebnisse der Versuche sind in den folgenden beiden Tabellen zusammengestellt.

Tabelle II.

Titration mit 0,5 g/dl Hydroxylaminsulfatlösung[1]).

Versuchsnummer	Verbrauchte Menge der Hydroxylaminsulfatlösung ccm	Verbrauchte Menge des Hydroxylaminsulfates g
1	2,80	0,014000
2	2,80	0,014000
3	2,82	0,014100
4	2,81	0,014050
5	2,80	0,014000
6	2,83	0,014150
7	2,84	0,014200
8	2,80	0,014000
9	2,82	0,014100
10	2,80	0,014000
Durchschnitt . . .	2,812	**0,014060**

Tabelle III.

Titration mit 0,25 g/dl Hydroxylaminsulfatlösung.

Versuchsnummer	Verbrauchte Menge der Hydroxylaminsulfatlösung ccm	Verbrauchte Menge des Hydroxylaminsulfates g
1	5,62	0,014050
2	5,65	0,014125
3	5,61	0,014025
4	5,63	0,014075
5	5,62	0,014050
Durchschnitt . . .	5,626	**0,014065**

Es hat sich hiernach ergeben, daß zur vollständigen Reduktion je einer Probe Pavy-Kumagawa-Sutoscher Kupferlösung, die genau 0,01 g d-Glucose entspricht, 0,014060 resp. 0,014065 g Hydroxylaminsulfat erforderlich ist.

Nun ist es nicht ohne Interesse, von vornherein die Frage zu entscheiden, inwiefern verschiedene Kochdauer den Verbrauch der Hydroxylaminlösung beim Zusatze der letzteren zur siedenden ammoniakalischen Kupferlösung beeinflußt. Hierzu wurde eine Reihe von Untersuchungen mit siedender Kupferlösung mit verschiedener Geschwindigkeit des Titrationstempos angestellt.

[1]) Alle hier in Betracht kommenden Hydroxylaminsulfatlösungen sind aus dem von mir gereinigten Salz hergestellt, dessen Reinheit eben zu prüfen ist.

Tabelle IV.

Titration mit verschiedener Geschwindigkeit.

Menge der Kupferlösung für je eine Probe	Geschwindigkeit des Zusatzes der Hydroxylaminsulfatlösung ccm	Verbrauch der Hydroxylaminsulfatlösung (0,5 g/dl) bis zur Endreaktion ccm
Kupferlösung und Ammoniakseignette-Salzlösung āā 20 ccm	2,4 ccm in 2 bis $2^{1}/_{2}$ Minute (ca. 30 gtt pro Minute)	2,80
	2,6 ccm in 1 Minute (ca. 8 gtt pro Minute)	2,80
	2,7 ccm in 50 Sekunden (ca. 96 gtt pro Minute)	2,81
	2,8 ccm in 40 bis 42 Sekund. (ca. 120 gtt pro Minute)	2,81

Hieraus geht hervor, daß die reduzierende Kraft der Hydroxylaminsulfatlösung für die ammoniakalische Kupferlösung von der Kochdauer fast unabhängig ist. Trotzdem habe ich nach zahlreichen Titrationen zur Erlangung stets richtiger Resultate es am zweckmäßigsten gefunden, wenn man mit einem Tempo von 96 bis 120 gtt pro Minute (3 bis 4 ccm pro Minute) titriert.

Wird nun der Gehalt des Hydroxylamins nach der folgenden Formel (Donath-Meyerinth)[1]) aus der Reduktionsgröße berechnet:

$$4\,CuO + 2\,NH_2OH = 2\,Cu_2O + N_2O + 3\,H_2O,$$

so werden 318,28 g des Kupferoxydes durch 164,15 g Hydroxylaminsulfat (entsprechend 66,06 g Hydroxylamin resp. 139,0 g Hydroxylaminhydrochloricum) reduziert.

Nun enthält eine Probe ammoniakalischer Kupferlösung 0,027265 g Kupferoxyd. Berechnet man nach der obigen Formel die Menge des entsprechenden Hydroxylaminsulfates, so beträgt dieselbe $\frac{164{,}15 \times 0{,}027265}{318{,}28}$ $= 0{,}014062$ g (entsprechend 0,011907 g Hydroxylaminhydrochloricum). Somit stimmen die Resultate der vorhergehenden Titrationen mit dem theoretisch berechneten Werte in der Tat vollkommen überein.

Obwohl uns nach diesem Befunde die Vermutung sehr wahrscheinlich erscheint, daß das von mir benutzte Hydroxylaminsulfat chemisch rein ist, und die Pavy-Kumagawa-Sutosche Methode zur Titerstellung der Hydroxylaminlösung vortreffliche Dienste leistet, so ist indes dieser Schluß nicht gestattet. Denn es ist eine offene Frage, ob die Reduktion des Hydroxylamins nach der Methode von Pavy-Kumagawa-Suto genau die Formel von Donath-Meyerinth befolgt, weil die beiden Methoden zwar in dem Prinzip gleich, aber sowohl in der Ausführung, wie in der Zusammensetzung der Kupferlösung ganz verschieden sind. Hieraus folgt, daß die Reinheit des Salzes ebenfalls unbewiesen ist. Um diesem Einwand ganz vorzubeugen, habe ich im folgenden versucht, die Reduktionskraft meiner Hydroxylaminlösungen vergleichsweise einmal

[1]) Donath-Meyerinth, Ber. d. Deutsch. chem. Ges. 10, 766—1940.

nach der Jodometrie von Meyerinth, dann nach Pavy-Kumagawa-Suto-Methode festzustellen. Sollten die Resultate der beiden Methoden ebenfalls gut übereinstimmen, so dürfte wohl die Reinheit meines Salzes als bewiesen angesehen werden.

Die beiden Methoden wurden einmal an der frisch zubereiteten Hydroxylaminsulfatlösung mit der Konzentration von 0,2 g/dl, dann mit der von 0,1 g/dl ausprobiert. Mit jeder Methode wurden je 5 Bestimmungen ausgeführt.

Jodometrische Wertbestimmung der Hydroxylaminlösung[1]). Prinzip: Man versetzt die Hydroxylaminlösung mit einer genügenden Menge von Magnesiumcarbonat (zur Bindung der gebildeten Jodwasserstoffsäure), dann mit überschüssiger $^n/_{10}$-Jodlösung und titriert den Jodüberschuß mit $^n/_{10}$-Natriumthiosulfatlösung zurück.

Die hierzu erforderliche $^n/_{10}$-Jodlösung sowie $^n/_{10}$-Natriumthiosulfatlösung wurden genau nach der Vorschrift von Schmidt[2]) hergestellt.

Die Ausführung der Titration geschieht in folgender Weise. Man pipettiert zuerst 25 ccm der zu prüfenden Hydroxylaminlösung, dann 200 ccm von $^n/_{10}$-Jodlösung in das Becherglas mit $MgCO_3$ in Substanz (ca. 2 g) ab, und titriert nach 5 Minuten den Jodüberschuß mit $^n/_{10}$-Natriumthiosulfatlösung zurück. Der Gehalt des Hydroxylamins wurde nach der folgenden Formel berechnet:

$$2\,NH_2OH + 4\,J = N_2O + H_2O + 4\,HJ.$$

Hiernach entsprechen 507,68 g Jod 164,15 g Hydroxylaminsulfat (= 66,06 g Hydroxylamin = 139,0 g Hydroxylaminhydrochloricum) und somit 1 ccm von $^n/_{10}$-Jodlösung (= 0,012692 g J) 0,004105 g Hydroxylaminsulfat.

Hieraus folgt: 0,004105 × (20 ccm der verwendeten $^n/_{10}$-Jodlösung — verbrauchte Menge der $^n/_{10}$-Natriumthiosulfatlösung) $\times \frac{100}{25}$ = Hydroxylaminsulfat in g/dl.

Versuch 1.

Tabelle V.

Wertbestimmung der Hydroxylaminsulfatlösung mit der Konzentration von 0,2 g/dl nach der Jodometrie.

Versuchsnummer	Die verbrauchte Menge der $^n/_{10}$-Natriumthiosulfatlösung ccm	Gefundene Konzentration der Hydroxylaminlösung g/dl
1	7,46	0,2059
2	8,21	0,1936
3	7,85	0,1995
4	8,07	0,1959
5	7,92	0,1984
Summa	39,51	0,9933
Mittelwert	7,90	0,1987

Die Fehlergröße beträgt 0,7%.

[1]) Bekurts, Maßanalyse S. 320 u. Schmidt, Pharm. Chemie I, S. 310.

[2]) Schmidt, Pharm. Chemie I, S. 287 und 596.

Versuch 2.

Tabelle VI.

Wertbestimmung der Hydroxylaminsulfatlösung mit der Konzentration von 0,1 g/dl nach der Jodometrie.

Versuchsnummer	Verbrauchte Menge der n/10-Natriumthiosulfatlösung ccm	Gefundene Konzentration der Hydroxylaminsulfatlösung g/dl
1	13,98	0,0988
2	13,85	0,1010
3	14,09	0,0970
4	14,12	0,0965
5	13,76	0,1025
Summa	69,81	0,4958
Mittelwert	13,96	0,0992

Die Fehlergröße beträgt 0,8 %.

Die Hauptresultate sind in einer Tabelle zusammengestellt.

Tabelle VII.

Konzentration der verwendeten Hydroxylaminsulfatlösung g/dl	Verbrauchte Menge der Hydroxylaminsulfatlösung ccm	Gefundene Konzentration der Hydroxylaminsulfatlösung g/dl
0,2	7,90	0,1987
0,1	13,96	0,0992

Hiernach stimmt die Wertbestimmung der Hydroxylaminsulfatlösung nach der Jodometrie für sich bis auf 0,7 resp. 0,8 % überein.

Wertbestimmung der Hydroxylaminlösung nach Pavy-Kumagawa-Suto-Methode.

Die Resultate sind in den Tabellen verzeichnet.

Versuch 1.

Tabelle VIII.

Hydroxylaminsulfatlösung mit der Konzentration von 0,2 g/dl.

Die Konzentration der Hydroxylaminlösung in g/dl

$$= \frac{0{,}014062 \times 100}{\text{Verbrauchte Menge der zu prüfenden Hydroxylaminsulfatlösung}}.$$

Versuchsnummer	Verbrauchte Menge der Hydroxylaminsulfatlösung ccm	Gefundene Konzentration der Hydroxylaminsulfatlösung g/dl
1	7,04	0,1997
2	7,09	0,1983
3	7,11	0,1978
4	7,07	0,1989
5	7,06	0,1992
Summa	35,37	0,9939
Mittelwert	7,074	0,1988

Die Fehlergröße beträgt 0,6 %.

Versuch 2.

Tabelle IX.

Hydroxylaminsulfatlösung mit der Konzentration von 0,1 g/dl.

Versuchsnummer	Verbrauchte Menge der Hydroxylaminsulfatlösung ccm	Gefundene Konzentration der Hydroxylaminsulfatlösung g/dl
1	14,12	0,0996
2	14,05	0,0001
3	14,11	0,0997
4	14,13	0,0995
5	14,23	0,0998
Summa	70,64	0,4977
Mittelwert	14,13	0,0995

Die Fehlergröße beträgt 0,5 %.

Die Hauptresultate sind in einer Tabelle zusammengestellt.

Tabelle X.

Konzentration der verwendeten Hydroxylaminsulfatlösung g/dl	Verbrauchte Menge der Hydroxylaminsulfatlösung ccm	Gefundene Konzentration der Hydroxylaminsulfatlösung g/dl
0,2	7,07	0,1988
0,1	14,13	0,0995

Demnach beträgt die Fehlergröße 0,5 resp. 0,6 %.

Alsdann versuchte ich die Titration mit reiner Hydroxylaminhydrochloricumlösung[1]) von 0,2 bis 0,1 g/dl und erhielt folgende Resultate:

Versuch 1.

Tabelle XI.

Hydroxylaminhydrochloricumlösung mit der Konzentration von 0,2 g/dl.

Die Konzentration der Hydroxylaminlösung in g/dl

$$= \frac{0{,}01192 \times 100}{\text{Die verbrauchte Menge der Hydroxylaminhydrochloricumlösung}}.$$

Versuchsnummer	Verbrauchte Menge der Hydroxylaminlösung ccm	Gefundene Konzentration der Hydroxylaminlösung g/dl
1	5,95	0,2003
2	5,93	0,2010
3	5,94	0,2007
4	6,00	0,1987
5	5,95	0,2003
Summa	29,77	1,0010
Mittelwert	5,95	0,2002

Die Fehlergröße beträgt 0,1 %.

[1]) Chemisch reines HCl-Hydroxylamin von Merck wurde mehrmals aus Wasser umkrystallisiert und die Krystalle im Exsiccator bis zum konstanten Gewichte getrocknet.

Versuch 2.

Tabelle XII.

Hydroxylaminhydrochloricumlösung mit der Konzentration von 0,1 g/dl.

Versuchsnummer	Verbrauchte Menge der Hydroxylaminlösung ccm	Gefundene Konzentration der Hydroxylaminlösung g/dl
1	11,88	0,1003
2	11,92	0,1000
3	11,90	0,1002
4	11,80	0,1003
5	11,95	0,0998
Summa	59,53	0,5006
Mittelwert	11,92	0,1001

Die Fehlergröße beträgt 0,1 %.

Die Hauptresultate sind in einer Tabelle zusammengestellt.

Tabelle XIII.

Konzentration der verwendeten Hydroxylaminlösung g/dl	Verbrauchte Menge der Hydroxylaminlösung ccm	Gefundene Konzentration der Hydroxylaminlösung g/dl
0,2	5,95	0,2002
0,1	11,91	0,1001

Hier beträgt die Fehlergröße 0,1 %. Zum besseren Vergleiche sind die Resultate nach beiden genannten Methoden in einer Tabelle zusammengestellt.

Tabelle IX.

Der Gehalt der Hydroxylaminlösung aus der Reduktionskraft berechnet:

Art der Methoden	Pavy-Kumagawa-Suto		Jodometrie	
Konzentration der verwendeten Hydroxylaminlösung	0,2 g/dl	0,1 g/dl	0,2 g/dl	0,1 g/dl
Mittelwert der Bestimmungen	0,1988	0,0995	0,1987	0,0992
Absolute Differenz	0,0012	0,0005	0,0013	0,0008
Differenz in %	0,6 %	0,5 %	0,7 %	0,8 %

Wir sehen also, daß die Resultate nach Pavy-Kumagawa-Suto und der Jodometrie mit dem theoretisch berechneten Werte der verwendeten Hydroxylaminlösung bis auf ää. $^1/_2$ % genau übereinstimmen. Demnach ist nunmehr der Nachweis mit Sicherheit erbracht worden, daß das von mir gereinigte Hydroxylaminsulfat chemisch rein ist und gleichzeitig,

daß die Pavy-Kumagawa-Sutosche Methode zur Wertbestimmung der Hydroxylaminlösung ausgezeichnete Dienste leistet.

Zur Reduktion einer Probe der gemischten ammoniakalischen Kupferlösung (ää 20 ccm) nach Pavy-Kumagawa-Suto, die genau 0,01 g d-Glucose entspricht, war stets 4,30 ccm der von mir hergestellten Bangschen Hydroxylaminsulfatlösung erforderlich, wie dies folgende Tabelle uns zeigt.

Tabelle XV.

Versuchsnummer	Verbrauchte Menge der Hydroxylaminsulfatlösung ccm
1	4,30
2	4,29
3	4,30
4	4,31
5	4,28
Mittelwert	4,30

Demnach:

Gefundene Konzentration der Hydroxylaminlösung = 0,3270 g/dl
Verlangte " " " = 0,3275 "

Es ist nun klar, daß sich diese Methode auch bei der KCNS-haltigen Hydroxylaminsulfatlösung sehr glatt ausführen läßt. Demnach habe ich vor jeder Serie nachfolgender Versuche eine Wertbestimmung der Hydroxylaminlösung nach der Pavy-Kumagawa-Sutoschen Methode ausgeführt.

Als ich nun mittels der zu obigen Versuchen benutzten Hydroxylaminlösung 50 ccm jener von mir hergestellten Kupferlösung in einem Erlenmeyerschen Kolben direkt in der Kälte (18°) titrierte, hat sich als Resultat mehrerer gut übereinstimmenden Einzelbestimmungen ergeben, daß zur Entfärbung der Kupferlösung anstatt 50 ccm stets 49,10 ccm meiner Hydroxylaminlösung ausreichten. Demnach ist meine Hydroxylaminlösung um 0,9 ccm pro 50 ccm konzentrierter als die Bangsche Angabe. Dies erklärt sich wohl einfach daraus, daß das von Bang benutzte Präparat etwas wasserhaltig sein mußte, während das meinige, wie oben erwähnt, im wasserfreien Zustande gewogen wurde.

Zur Prüfung der Bangschen Methode wurden d-Glucoselösungen verschiedener Konzentrationen hergestellt und dieselben genau nach der Vorschrift von Bang titriert.

d-Glucose von Merck (nach Soxhlet) wurde mehrmals aus acetonfreiem Methylalkohol umkrystallisiert und die Krystalle bei 100°, dann im Vakuumexsiccator über Chlorcalcium bis zum konstanten Gewichte getrocknet.

Da der Gehalt der Zuckerlösung bekanntlich mit der Zeit allmählich abnimmt, so wurde die Zuckerlösung für jeden Versuchstag stets von neuem hergestellt. Die Konzentrationen der benutzten Zucker

lösungen sind: 0,5, 0,4, 0,35, 0,3, 0,25, 0,2, 0,1 g/dl. Die im Erlenmeyerschen Kolben (Jenaglas) vorgelegten 50 ccm meiner Kupferlösung wurden mit je 50 ccm obiger Zuckerlösungen versetzt und gekocht. Die Flamme wurde so reguliert, daß die Kupferzuckerlösung in 3 Minuten zum Kochen gebracht wurde. Nachdem dann die Mischung genau 3 Minuten lang im Sieden erhalten worden war, wurde dieselbe im Kühlbade durch Zuströmenlassen von Leitungswasser (15°) rasch bis zu 18° abgekühlt. Alsdann wurde die Titration auf die Weise ausgeführt, daß die Hydroxylaminlösung in einem Tempo von 10 ccm pro Minute in die Kupferlösung hineinfloß. Der Titer der hierzu verwendeten Hydroxylaminlösung wurde aus der oben beschriebenen durch Verdünnung mit 10%iger Rhodankaliumlösung so korrigiert, daß dieselbe zur vollständigen Entfärbung von 50 ccm Kupferlösung ebenfalls genau 50 ccm erforderte. Aus der verbrauchten Menge der Hydroxylaminlösung wurde die Zuckermenge nach der Bangschen Tabelle im Hammarstenschen Lehrbuch der physiologischen Chemie (7. Aufl.) berechnet. Von jeder Zuckerlösung derselben Konzentration wurden je 5 Bestimmungen ausgeführt. Die Resultate sind in der folgenden Tabelle verzeichnet.

Tabelle XVI.

Bei 0,5 g/dl d-Glucoselösung.

Versuchsnummer	Verbrauchte Menge der Hydroxylaminlösung ccm	Zuckermenge, nach Bangscher Tabelle berechnet g/dl
1	5,40	0,509
2	5,50	0,507
3	5,45	0,508
4	5,50	0,507
5	5,35	0,510
Summa	27,20	2,541
Mittelwert . . .	5,44	0,508

Die Fehlergröße beträgt + 1,6%.

Tabelle XVII.

Bei 0,4 g/dl d-Glucoselösung.

Versuchsnummer	Verbrauchte Menge der Hydroxylaminlösung ccm	Zuckermenge, nach Bangscher Tabelle berechnet g/dl
1	11,85	0,406
2	11,80	0,407
3	11,55	0,410
4	11,70	0,408
5	11,65	0,409
Summa	58,55	2,040
Mittelwert . . .	11,71	0,408

Die Fehlergröße beträgt + 2,0%.

Tabelle XVIII.

Bei 0,35 g/dl d-Glucoselösung.

Versuchsnummer	Verbrauchte Menge der Hydroxylaminlösung ccm	Zuckermenge, nach Bangscher Tabelle berechnet g/dl
1	15,10	0,363
2	15,00	0,364
3	14,95	0,366
4	15,00	0,364
5	15,10	0,363
Summa	75,15	1,820
Mittelwert . . .	15,03	0,364

Die Fehlergröße beträgt + 4,0 %.

Tabelle XIX.

Bei 0,3 g/dl d-Glucoselösung.

Versuchsnummer	Verbrauchte Menge der Hydroxylaminlösung ccm	Zuckermenge, nach Bangscher Tabelle berechnet g/dl
1	19,20	0,312
2	18,80	0,316
3	19,20	0,312
4	18,80	0,316
5	18,75	0,317
Summa	94,75	1,573
Mittelwert . . .	18,95	0,315

Die Fehlergröße beträgt + 5,0 %.

Tabelle XX.

Bei 0,25 g/dl d-Glucoselösung.

Versuchsnummer	Verbrauchte Menge der Hydroxylaminlösung ccm	Zuckermenge, nach Bangscher Tabelle berechnet g/dl
1	23,20	0,262
2	23,05	0,264
3	23,00	0,265
4	23,10	0,264
5	23,15	0,263
Summa	115,50	1,318
Mittelwert . . .	23,10	0,264

Die Fehlergröße beträgt + 5,6 %.

Tabelle XXI.

Bei 0,5 g/dl d-Glucoselösung.

Versuchsnummer	Verbrauchte Menge der Hydroxylaminlösung ccm	Zuckermenge, nach Bangscher Tabelle berechnet g/dl
1	27,60	0,211
2	27,70	0,210
3	27,50	0,212
4	27,45	0,213
5	27,70	0,210
Summa	137,95	1,056
Mittelwert . . .	27,59	0,211

Die Fehlergröße beträgt + 5,5 %.

Tabelle XXII.

Bei 0,1 g/dl d-Glucoselösung.

Versuchsnummer	Verbrauchte Menge der Hydroxylaminlösung ccm	Zuckermenge, nach Bangscher Tabelle berechnet g/dl
1	37,60	0,108
2	37,50	0,109
3	37,40	0,110
4	37,50	0,109
5	37,45	0,110
Summa	187,45	0,546
Mittelwert . . .	37,49	0,109

Die Fehlergröße beträgt + 9,0%.

Tabelle XXIII.

Die obenerwähnten Resultate sind zur Übersicht in einer Tabelle zusammengestellt.

Konzentration der verwendeten d-Glucoselösung g/dl	Verbrauchte Menge der Hydroxylaminlösung ccm	Zuckermenge, nach der Bangschen Formel berechnet g/dl	Fehlergröße %
0,50	5,44	0,508	+ 1,6
0,40	11,71	0,408	+ 2,0
0,35	15,03	0,364	+ 4,0
0,30	18,95	0,315	+ 5,0
0,25	23,10	0,264	+ 5,6
0,20	27,59	0,211	+ 5,5
0,10	37,49	0,109	+ 9,0

Daß hiernach die Bangsche Methode je nach der Konzentration der Zuckerlösung eine beträchtliche Abweichung von dem wahren Zuckerwerte aufweist,

hat mich sehr überrascht. Sehr auffällig ist es dabei, daß der prozentische Fehler um so größer ist, je geringer die Zuckerkonzentration ist. Während der Fehler bei der Zuckerlösung von 0,5 g/dl 1,6 % beträgt, nimmt derselbe mit der Verdünnung der Zuckerlösung fast umgekehrt proportional zu und erreicht bei einer Konzentration von 0,1 g/dl eine unerwartete Größe von 9 %! Dabei bleibt die absolute Fehlergröße von der Zuckerkonzentration fast unabhängig.

Demnach scheint bei der Bangschen Methode eine bestimmte Fehlerquelle mitzusprechen, die mit der Verdünnung der Zuckerkonzentration die Fehlergrenze immer deutlicher zum Vorschein bringt. Ehe ich indessen zur Aufsuchung dieser Fehlerquelle schritt, habe ich vergleichende Zuckerbestimmungen an denselben Zuckerlösungen nach Pavy-Kumagawa-Suto ausgeführt, um zu sehen, ob die hier verwendete d-Glucose in der Tat die theoretisch richtige Reduktionskraft besitzt. Wie oben erwähnt, wurden bei dieser Methode für je eine Probe 20 ccm Kupferlösung und 20 ccm Ammoniak-Ätzkali-Seignettesalzlösung im luftleeren Raum bei Siedehitze mit Zuckerlösung titriert. Eine Probe entspricht genau 0,01 g d-Glucose. Titration geschah mit einem Tempo von 2 bis 3 ccm pro Minute. Von jeder Zuckerlösung derselben Konzentration wurden je 5 Bestimmungen ausgeführt. Die Resultate sind in den folgenden Tabellen verzeichnet.

Versuch 1.

Tabelle XXIV.

Titration mit 0,5 g/dl d-Glucoselösung.

Versuchsnummer	Verbrauchte Menge der Zuckerlösung ccm	Gefundene Konzentration der d-Glucoselösung g/dl
1	2,05	0,4878
2	2,02	0,4950
3	2,00	0,5000
4	2,02	0,4950
5	1,98	0,5050
Summa	10,07	2,4828
Mittelwert . . .	2,01	0,4966

Die Fehlergröße beträgt — 0,7 %.

Versuch 2.

Tabelle XXV.

Titration mit 0,4 g/dl d-Glucoselösung.

Versuchsnummer	Verbrauchte Menge der Zuckerlösung ccm	Gefundene Konzentration der d-Glucoselösung g/dl
1	2,51	0,3984
2	2,50	0,4000
3	2,50	0,4000
4	2,52	0,3968
5	2,53	0,3953
Summa	12,56	1,9905
Mittelwert . . .	2,51	**0,3981**

Die Fehlergrenze beträgt — 0,5 %.

Versuch 3.

Tabelle XXVI.

Titration mit 0,35 g/dl d-Glucoselösung.

Versuchsnummer	Verbrauchte Menge der Zuckerlösung ccm	Gefundene Konzentration der d-Glucoselösung g/dl
1	2,85	0,3509
2	2,83	0,3534
3	2,88	0,3472
4	2,82	0,3546
5	2,83	0,3534
Summa	14,21	1,7595
Mittelwert . . .	2,84	**0,3519**

Die Fehlergrenze beträgt + 0,5 %.

Versuch 4.

Tabelle XXVII.

Titration mit 0,3 g/dl d-Glucoselösung.

Versuchsnummer	Verbrauchte Menge der Zuckerlösung ccm	Gefundene Konzentration der d-Glucoselösung g/dl
1	3,36	0,2976
2	3,35	0,2985
3	3,33	0,3003
4	3,30	0,3030
5	3,30	0,3030
Summa	16,64	1,5024
Mittelwert . . .	3,33	**0,3005**

Die Fehlergröße beträgt + 0,2 %.

Versuch 5.

Tabelle XXVIII.

Titration mit 0,25 g/dl d-Glucoselösung.

Versuchsnummer	Verbrauchte Menge der Zuckerlösung ccm	Gefundene Konzentration der d-Glucoselösung g/dl
1	4,02	0,2488
2	4,00	0,2500
3	4,01	0,2494
4	3,98	0,2513
5	4,03	0,2481
Summa	20,04	1,2476
Mittelwert . . .	4,01	0,2495

Die Fehlergröße beträgt — 0,2 %.

Versuch 6.

Tabelle XXIX.

Titration mit 0,2 g/dl d-Glucoselösung.

Versuchsnummer	Verbrauchte Menge der Zuckerlösung ccm	Gefundene Konzentration der d-Glucoselösung g/dl
1	5,00	0,2000
2	5,02	0,1992
3	5,00	0,2000
4	4,98	0,2008
5	5,01	0,1996
Summa	25,01	0,9996
Mittelwert . . .	5,002	0,1999

Die Fehlergrenze beträgt — 0,1 %.

Versuch 7.

Tabelle XXX.

Titration mit 0,1 g/dl d-Glucoselösung.

Versuchsnummer	Verbrauchte Menge der Zuckerlösung ccm	Gefundene Konzentration der d-Glucoselösung g/dl
1	10,07	0,0993
2	10,05	0,0995
3	10,02	0,0998
4	9,98	0,1002
5	10,03	0,0997
Summa	50,15	0,4985
Mittelwert . . .	10,03	0,0997

Die Fehlergrenze beträgt — 0,3 %.

Die Mittelwerte der vorhergehenden Resultate sind zur Übersicht in einer Tabelle zusammengestellt.

Tabelle XXXI.

Konzentration der verwendeten d-Glucoselösung g/dl	Verbrauchte Menge der d-Glucoselösung ccm	Gefundene Zuckermenge g/dl	Fehlergröße %
0,50	2,01	0,4975	−0,7
0,40	2,51	0,3984	−0,5
0,35	2,84	0,3521	−0,5
0,30	3,33	0,3005	+0,2
0,25	4,01	0,2494	−0,2
0,20	5,002	0,1999	−0,1
0,10	10,03	0,0997	−0,3

Wie Kumagawa und Suto[1]) in ihrer ersten Publikation ausdrücklich betont haben, und T. Kinoshita[2]) später vollkommen bestätigt hat, gibt diese Methode streng genommen bei einer Konzentration von 0,2 g/dl der Zuckerlösung ganz richtige Werte an. Wie die Tabelle zeigt, habe ich auch bei meinen Untersuchungen unterhalb von 0,3 g/dl praktisch vollkommen richtige Resultate erhalten. Demnach kann kein Zweifel mehr darüber obwalten, daß die hier verwendete d-Glucose für unseren Zweck tadellos rein ist. Die folgende Tabelle zeigt uns, wie groß die Abweichung der gefundenen Zuckerwerte von dem wirklichen Zuckergehalte der verwendeten Lösungen nach Bang einerseits und nach Kumagawa-Suto andererseits ist.

Tabelle XXXII.

Übersichtstabelle über die Fehlergröße der Zuckerbestimmung nach Bang einerseits und nach Pavy-Kumagawa-Suto andererseits.

Konzentration der d-Glucoselösung g/dl	Fehlergröße nach Bang %	Fehlergröße nach Pavy-Kumagawa-Suto %
0,50	+1,6	−0,7
0,40	+2,0	−0,5
0,35	+4,0	+0,5
0,30	+5,0	+0,2
0,25	+5,6	−0,2
0,20	+5,5	−0,1
0,10	+9,0	−0,3

[1]) Kumagawa und Suto, Salkowski-Festschr. S. 211.
[2]) T. Kinoshita, diese Zeitschr. 9, 208.

Ermittlung der Fehlerquellen bei der Bangschen Methode.

Um die Fehlerquelle bei der genannten Methode ausfindig zu machen, habe ich alle einzelnen Phasen der Methode systematisch durchgeprüft.

Untersucht worden sind:

1. Einfluß der Geschwindigkeit der Titration, 2. Einfluß der Temperatur bei der Titration, 3. Haltbarkeit der Bangschen Kupferlösung bei der Aufbewahrung, 4. Haltbarkeit der Hydroxylaminlösung, 5. Einfluß der Volumenveränderung der Kupferlösung infolge des Verdampfens, 6. Selbstreduktion der Kupferlösung beim Kochen, 7. Reoxydation der Kupferlösung nach der Reduktion usw. Die genaueren Angaben über die Einzelheiten werden nunmehr der Reihe nach folgen.

I. Einfluß der Geschwindigkeit der Titration.

Über die Geschwindigkeit der Titration sagt Bang[1]), daß es für die Resultate ganz gleichgültig ist, ob man die Titration mit einem Schlage oder fraktioniert ausführt. Nach meinen Untersuchungen verhält sich dieses jedoch anders. Im folgenden habe ich 10 ccm der vorgelegten Kupferlösung bei 15° mit verschiedenem Tempo titriert.

Versuch 1.

Tabelle XXXIII.

Zusatz der Hydroxylaminlösung 1,75 ccm pro Minute.

Versuchs-nummer	Vorgelegte Kupferlösung ccm	Verbrauch der Hydroxylamin-lösung ccm
1	10	9,75
2	10	9,70
3	10	9,75
Summa	—	29,20
Mittelwert . .		9,73

Die Wertverschiebung beträgt — 2,7 %.

1) Bang, diese Zeitschr. 2, 277.

Versuch 2.

Tabelle XXXIV.

Zusatz der Hydroxylaminlösung 3,5 ccm pro Minute.

Versuchs-nummer	Vorgelegte Kupferlösung ccm	Verbrauch der Hydroxylamin-lösung ccm
1	10	9,90
2	10	9,80
3	10	9,85
Summa	—	29,55
Mittelwert . .		9,85

Die Wertverschiebung beträgt — 1,5 %.

Versuch 3.

Tabelle XXXV.

Zusatz der Hydroxylaminlösung 5 ccm pro Minute.

Versuchs-nummer	Vorgelegte Kupferlösung ccm	Verbrauch der Hydroxylamin-lösung ccm
1	10	9,95
2	10	9,95
3	10	9,90
4	10	9,95
Summa	—	39,75
Mittelwert . .		9,94

Die Wertverschiebung beträgt — 0,6 %.

Versuch 4.

Tabelle XXXVI.

Zusatz der Hydroxylaminlösung 7 ccm pro Minute.

Versuchs-nummer	Vorgelegte Kupferlösung ccm	Verbrauch der Hydroxylamin-lösung ccm
1	10	10,00
2	10	9,95
3	10	10,00
4	10	10,08
5	10	10,00
Summa	—	50,03
Mittelwert . .		10,006

Die Wertverschiebung beträgt + 0,1 %.

Versuch 5.

Tabelle XXXVII.

Zusatz der Hydroxylaminlösung 10 ccm pro Minute.

Versuchsnummer	Vorgelegte Kupferlösung ccm	Verbrauch der Hydroxylaminlösung ccm
1	10	10,02
2	10	10,00
3	10	10,05
4	10	10,00
5	10	10,05
Summa	—	50,12
Mittelwert . .		**10,024**

Die Wertverschiebung beträgt + 0,2 %.

Versuch 6.

Tabelle XXXVIII.

Zusatz der Hydroxylaminlösung 15 ccm pro Minute.

Versuchsnummer	Vorgelegte Kupferlösung ccm	Verbrauch der Hydroxylaminlösung ccm
1	10	10,65
2	10	10,10
3	10	10,05
Summa	—	30,20
Mittelwert . .		**10,07**

Die Wertverschiebung beträgt + 0,7 %.

Versuch 7.

Tabelle XXXIX.

Zusatz der Hydroxylaminlösung 20 ccm pro Minute.

Versuchsnummer	Vorgelegte Kupferlösung ccm	Verbrauch der Hydroxylaminlösung ccm
1	10	10,20
2	10	10,19
3	10	10,22
4	10	10,30
5	10	10,31
Summa	—	51,22
Mittelwert . .		**10,24**

Die Wertverschiebung beträgt + 2,4 %.

Versuch 8.

Zusatz der Hydroxylaminlösung auf einmal. Zuerst wurde durch mehrere Vorproben festgestellt, daß zur Entfärbung von 10 ccm vorgelegter Kupferlösung etwas mehr als 10,10 ccm Hydroxylaminlösung erforderlich waren. Um die Endreaktion bis auf den letzten Tropfen des Hydroxylaminzusatzes ganz genau festzustellen, habe ich hier eine besondere Vorrichtung angewendet. Hierzu habe ich mehrere kleine Kölbchen von etwa 20 bis 30 ccm Rauminhalt aus ganz dünnwandigem Glas angefertigt. In dieselben wurden genau 10,10 ccm Hydroxylaminlösung aus der Bürette gegeben und in ein mit genau 10 ccm Kupferlösung beschicktes Becherglas derart hineingetaucht, daß das Niveau der Hydroxylaminlösung stets unterhalb dem der Kupferlösung kommt. Das Ganze wurde dann in eine Wanne hineingetaucht, worin beständig das Leitungswasser von 15° zirkuliert. Sobald der ins Becherglas gesteckte Normalthermometer genau 15° anzeigte, wurde das Kölbchen mit Hydroxylaminlösung mittels eines Glasstabes zerbrochen und die beiden Flüssigkeiten wurden gut durchgemischt. Alsdann wurde die noch zurückbleibende Blaufärbung der Kupferlösung durch tropfenweisen Zusatz der Hydroxylaminlösung aus der Bürette eben vollständig entfärbt. Die Resultate sind in folgender Tabelle verzeichnet:

Tabelle XL.

Versuchs-nummer	Vorgelegte Kupferlösung ccm	Verbrauch der Hydroxylaminlösung ccm
1	10	10,20
2	10	10,30
3	10	10,25
4	10	10,20
5	10	10,30
Summa . . .	—	51,25
Mittelwert . .	—	10,25

Die Wertverschiebung beträgt +2,5%.

Die Mittelwerte von je 5 Einzelverschiebungen in der vorhergehenden Versuchsreihe sind in eine Tabelle eingetragen worden.

Tabelle XLI.

Wertverschiebung der Hydroxylaminlösung bei der Titration mit verschiedenem Tempo. (Kupferlösung 10 ccm vorgelegt. Titration bei 15°.)

Vorgelegte Kupferlösung ccm	Zusatz der Hydroxylaminlösung pro Minute ccm	Verbrauchte Menge der Hydroxylaminlösung ccm	Abweichung von 10 ccm	Wertverschiebung %
10	1,75	9,73	−0,27	−2,7
10	3,50	9,85	−0,15	−1,5
10	5,00	9,94	−0,06	−0,6
10	7,00	10,01	+0,01	+0,1
10	10,00	10,02	+0,02	+0,2
10	15,00	10,07	+0,07	+0,7
10	25,00	10,24	+0,24	+2,4
10	Zusatz auf einmal	10,25	+0,25	+2,5

Demnach ändert sich die Reduktionsgröße der Hydroxylaminlösung mit der Geschwindigkeit des Zusatzes fortwährend, und zwar fast umgekehrt proportional zu der Schnelligkeit, d. h. die Reduktionsgröße der Hydroxylaminlösung nimmt um so mehr ab, je schneller man dieselbe zu der Kupferlösung zusetzt. Genaue Übereinstimmung von Kupferlösung und Hydroxylaminlösung findet nur dann statt, wenn man bei einem Tempo von 7 bis 10 ccm pro Minute titriert. Zwischen dem Zusatze auf einmal und dem von 1,75 ccm pro Minute findet eine Wertverschiebung der Hydroxylaminlösung um 5,2% statt. Dies betrifft indes nur den Fall, wenn man 10 ccm der vorgelegten Kupferlösung bei 15° titriert. Im folgenden habe ich 50 ccm Kupferlösung vorgelegt und ebenfalls bei 15° titriert.

Versuch 1.

Tabelle XLII.

Zusatz der Hydroxylaminlösung 7 ccm pro Minute.

Versuchsnummer	Vorgelegte Kupferlösung ccm	Verbrauch der Hydroxylaminlösung ccm
1	50	49,20
2	50	49,10
3	50	49,00
4	50	49,20
Summa . . .	—	196,50
Mittelwert . .	—	49,12

Die Wertverschiebung beträgt −1,7%.

Versuch 2.

Tabelle XLIII.

Zusatz der Hydroxylaminlösung 10 ccm pro Minute.

Versuchs-nummer	Vorgelegte Kupferlösung ccm	Verbrauch der Hydroxylamin-lösung ccm
1	50	49,20
2	50	49,15
3	50	49,20
4	50	49,25
Summa . . .	—	196,80
Mittelwert . .	—	**49,20**

Die Wertverschiebung beträgt — 1,6 %.

Versuch 3.

Tabelle XLIV.

Zusatz der Hydroxylaminlösung 20 ccm pro Minute.

Versuchs-nummer	Vorgelegte Kupferlösung ccm	Verbrauch der Hydroxylamin-lösung ccm
1	50	50,10
2	50	50,15
Summa . . .	—	100,25
Mittelwert . .	—	**50,12**

Die Wertverschiebung beträgt + 0,3 %.

Versuch 4.

Tabelle XLV.

Zusatz der Hydroxylaminlösung 25 ccm pro Minute.

Versuchs-nummer	Vorgelegte Kupferlösung ccm	Verbrauch der Hydroxylamin-lösung ccm
1	50	50,60
2	50	50,40
3	50	50,45
Summa . . .	—	151,45
Mittelwert . .	—	**50,48**

Die Wertverschiebung beträgt + 1,0 %.

Versuch 5.

Tabelle XLVI.

Zusatz der Hydroxylaminlösung 50 ccm pro Minute.

Versuchs-nummer	Vorgelegte Kupferlösung ccm	Verbrauch der Hydroxylamin-lösung ccm
1	50	51,20
2	50	51,30
Summa . . .	—	102,50
Mittelwert . .	—	**51,25**

Die Wertverschiebung beträgt + 2,5 %.

Versuch 6.

Tabelle XLVII.

Zusatz der Hydroxylaminlösung 70 ccm pro Minute.

Versuchs-nummer	Vorgelegte Kupferlösung ccm	Verbrauch der Hydroxylamin-lösung ccm
1	50	52,50
2	50	52,50
3	50	52,40
Summa . . .	—	157,40
Mittelwert . .	—	**52,47**

Die Wertverschiebung beträgt + 4,9 %.

Versuch 7.

Tabelle XLVIII.

Zusatz der Hydroxylaminlösung auf einmal.

Versuchs-nummer	Vorgelegte Kupferlösung ccm	Verbrauch der Hydroxylamin-lösung ccm
1	50	52,55
2	50	52,50
3	50	52,55
Summa . . .	—	157,50
Mittelwert . .	—	**52,53**

Die Wertverschiebung beträgt + 5,1 %.

Tabelle XLIX.

Wertverschiebung der Hydroxylaminlösung bei der Titration mit verschiedenem Tempo, wenn man 50 ccm der Kupferlösung vorlegt.

(Titration bei 15°.)

Vorgelegte Kupferlösung ccm	Zusatz der Hydroxylaminlösung pro Minute ccm	Verbrauchte Menge der Hydroxylaminlösung ccm	Abweichung von 50 ccm	Wertverschiebung %
50	7	49,13	− 0,87	− 1,7
50	10	49,20	− 0,80	− 1,6
50	20	50,13	+ 0,13	− 0,3
50	25	50,48	+ 0,48	+ 1,0
50	50	51,25	+ 1,25	+ 2,5
50	70	52,47	+ 2,47	+ 4,9
50	Zusatz auf einmal	52,53	+ 2,53	+ 5,1

In diesem Falle erhält man nur dann ganz richtige Resultate, wenn man mit einem Tempo von 20 ccm pro Minute titriert. Zwischen dem Zusatze auf einmal und dem von 7 ccm pro Minute findet eine Wertverschiebung der Hydroxylaminlösung um 6,8 % statt. Hiernach ist es klar, daß die Geschwindigkeit der Titration entgegen der Anschauung von Bang in Übereinstimmung mit Jessen-Hansen zur Erhaltung richtiger Resultate nicht gleichgültig ist. Allerdings kann dieser Fehler praktisch nicht sehr groß werden, weil man sowohl bei der anfänglichen Titerstellung der Hydroxylaminlösung wie bei der eigentlichen Zuckerbestimmung mit annähernd gleichem Tempo titrieren würde, zumal da es sich um die Zurücktitrierung desjenigen Anteils der Kupferlösung handelt, der nach der stattgefundenen Reduktion durch Zuckerlösung zurückgeblieben ist.

II. Einfluß der Temperatur bei der Titration.

In bezug auf die Temperatur macht Bang keine bestimmte Angabe und sagt darüber einfach, daß die Titration „in der Kälte oder bei Stubentemperatur“ ausgeführt wird. Da die Zimmertemperatur je nach der Jahreszeit ziemlich stark schwanken kann, so habe ich auch von rein theoretischem Interesse das Reduktionsvermögen der Hydroxylaminlösung für das Kupfer-

oxyd von 10° bis zur Siedehitze der Kupferlösung durchgeprüft. Alle Titrationen wurden bei Luftzutritt im Erlenmeyerschen Kolben ausgeführt. Die mit „heiß“ bezeichnete Titration bedeutet, daß dieselbe bei eben ausgelöschter Flamme nach dem Sieden der Kupferlösung ausgeführt wurde. Bei den übrigen Proben wurde die Temperatur der Kupferlösung durch das von vornherein eingelegte Normalthermometer im Erlenmeyerschen Kolben festgestellt. Die Regulation der Temperatur geschah durch die fortwährende Zuströmung des entsprechend wärmeren oder kälteren Wassers in die Außenwanne, in das die Titrationsflasche hineingetaucht wurde. Die Resultate von je 3 Einzelbestimmungen für jede Temperatur sind im folgenden verzeichnet.

Versuch 1.

Tabelle L.

Temperatur bei der Titration: siedend.

Versuchsnummer	Vorgelegte Kupferlösung ccm	Verbrauch der Hydroxylaminlösung ccm
1	50	35,95
2	50	35,90
3	50	35,85
Summa	—	107,70
Mittelwert . .	—	35,90

Die Wertverschiebung beträgt —28,2 %.

Versuch 2.

Tabelle LI.

Temperatur bei der Titration: heiß.

Versuchsnummer	Vorgelegte Kupferlösung ccm	Verbrauch der Hydroxylaminlösung ccm
1	50	38,15
2	50	38,20
3	50	38,05
Summa	—	114,40
Mittelwert . .	—	38,13

Die Wertverschiebung beträgt —23,7 %.

Versuch 3.

Tabelle LII.

Temperatur bei der Titration: 50°.

Versuchs-nummer	Vorgelegte Kupferlösung ccm	Verbrauch der Hydroxylamin-lösung ccm
1	50	43,15
2	50	43,00
3	50	42,85
Summa	—	129,00
Mittelwert . .	—	**43,00**

Die Wertverschiebung beträgt — 14 %.

Versuch 4.

Tabelle LIII.

Temperatur bei der Titration: 30°.

Versuchs-nummer	Vorgelegte Kupferlösung ccm	Verbrauch der Hydroxylamin-lösung ccm
1	50	47,55
2	50	47,50
3	50	47,55
Summa	—	142,60
Mittelwert . .	—	**47,53**

Die Wertverschiebung beträgt — 4,9 %.

Versuch 5.

Tabelle LIV.

Temperatur bei der Titration: 20°.

Versuchs-nummer	Vorgelegte Kupferlösung ccm	Verbrauch der Hydroxylamin-lösung ccm
1	50	49,50
2	50	49,45
3	50	49,45
Summa	—	148,50
Mittelwert . .	—	**49,47**

Die Wertverschiebung beträgt — 1 %.

Versuch 6.

Tabelle LV.

Temperatur bei der Titration: 10°.

Versuchs-nummer	Vorgelegte Kupferlösung ccm	Verbrauch der Hydroxylamin-lösung ccm
1	50	51,45
2	50	51,40
3	50	51,50
Summa	—	154,35
Mittelwert . .	—	**51,45**

Die Wertverschiebung beträgt + 2,9 %.

Versuch 7.

Tabelle LVI.

Temperatur bei der Titration: 15°.

Versuchs-nummer	Vorgelegte Kupferlösung ccm	Verbrauch der Hydroxylamin-lösung ccm
1	50	50,40
2	50	50,30
3	50	50,35
Summa	—	151,05
Mittelwert . .	—	**50,35**

Die Wertverschiebung beträgt + 0,7 %.

Versuch 8.

Tabelle LVII.

Temperatur bei der Titration: 18°.

Versuchs-nummer	Vorgelegte Kupferlösung ccm	Verbrauch der Hydroxylamin-lösung ccm
1	50	49,95
2	50	50,00
3	50	49,90
Summa	—	149,95
Mittelwert . .	—	**49,95**

Die Wertverschiebung beträgt — 0,1 %.

Tabelle LVIII.

Wertverschiebung der Hydroxylaminlösung bei verschiedener Temperatur der Kupferlösung zur Zeit der Titration. (Kupferlösung 50 ccm vorgelegt. Titration mit einem Tempo von 10 ccm pro Minute.)

Vorgelegte Kupferlösung ccm	Temperatur bei der Titration	Verbrauch d. Hydroxylaminlösung ccm	Abweichung von 50 ccm	Wertverschiebung in % ausgedrückt	Verbrauchsabnahme der Hydroxylaminlösung für je 1° Steigerung ccm
50	siedend	35,90	− 14,10	− 28,2	—
50	heiß	38,13	− 11,87	− 23,7	—
50	50°	43,00	− 7,00	− 14,0	0,13
50	30°	47,53	− 2,47	− 4,9	0,16
50	20°	49,47	− 0,53	− 1,0	0,16
50	18°	49,95	− 0,05	− 0,1	0,16
50	15°	50,35	+ 0,35	+ 0,7	0,16
50	10°	51,45	+ 1,45	+ 2,9	0,16

Hiernach findet mit der Steigerung der Temperatur der Kupferlösung bei der Titration eine beträchtliche Wertverschiebung nach der negativen Seite statt. Diese Wertverschiebung beträgt bei siedender Kupferlösung — 28,2%. Indes hat die Beeinflussung der Temperatur über 30° aufwärts praktisch wenig Bedeutung und ist nur von theoretischem Interesse, weil man kaum in die Lage kommt, bei so hohen Temperaturen Titrationen auszuführen. Nichtsdestoweniger muß man auch aus praktischen Gründen sich darüber wohl bewußt sein, daß bei der Bangschen Zuckerbestimmung je nach der Verschiedenheit der Temperatur der Kupferlösung bei der Titration zwischen 10° und 30° eine Wertverschiebung der Hydroxylaminlösung im Maximum um 7,8% stattfindet.

III. Einfluß der Volumänderung der Kupferlösung infolge der Verdampfung.

Bei der Zuckerbestimmung nach Bang werden bekanntlich 50 ccm Kupferlösung vorgelegt, mit 10 ccm der zu prüfenden Zuckerlösung versetzt und 3 Minuten lang gekocht. Nach der raschen Abkühlung wird die Mischung mit der Hydroxylaminlösung titriert, die in der Kälte für 50 ccm der Kupferlösung eingestellt worden ist. Wie schon Jessen-Hansen darauf aufmerksam gemacht hat, könnte bloße Konzentrationsänderung der Mischung infolge der Abkochung eine Wertverschiebung der Hydroxylaminlösung verursachen. Daher habe ich 50 ccm

Kupferlösung + 100 ccm Wasser genau 3 Minuten lang nach dem Sieden gekocht und nach der raschen Abkühlung das Volum der Lösung gemessen. Die Volumabnahme betrug im Mittel von mehreren Einzelbestimmungen 6 ccm anstatt 8 ccm nach Jessen-Hansen.[1]) Deshalb habe ich die Titrationsversuche mittels der Hydroxylaminlösung mit Extrazusatz von 4 ccm Wasser für 50 ccm Kupferlösung mehrmals wiederholt. Der Verbrauch der Hydroxylaminlösung betrug dabei im Mittel 50,10 ccm. Die Differenz betrug demnach nur 0,1 ccm gegen 50 ccm, d. h. es fand infolge der Abkochung eine Wertverschiebung der Hydroxylaminlösung um 0,2 $^0/_0$ statt.

IV. Haltbarkeit der Kupferlösung bei der Aufbewahrung.

In Flaschen von ca. 500 ccm Rauminhalt teils aus farblosem, teils aus braun gefärbtem Glase wurden 350 bis 400 ccm Kupferlösung hineingetan und der Verschluß außer mit geschliffenen Stöpseln noch mit Paraffin gesichert. Dieselben wurden teils im direkten Sonnenlicht, teils im Dunkeln aufbewahrt. Nach verschiedener Zeit wurden dieselben mit Hydroxylaminlösung titriert, deren Wertbestimmung jedesmal nach Pavy-Kumagawa-Suto ausgeführt wurde. Die Mittelwerte von je 3 Bestimmungen sind in folgender Tabelle zusammengestellt.

Tabelle LIX.

Haltbarkeit der Kupferlösung bei der Aufbewahrung. (20 ccm Kupferlösung entsprechen 19 ccm der hierzu benutzten Hydroxylaminlösung. Schwankung der Zimmertemperatur zwischen 15 bis 18°. Titration bei 15° mit einem Tempo von 10 ccm pro Minute.)

Dauer der Abweichung	Art der Aufbewahrung				
	im direkten Lichte		im indirekten Lichte		im Dunkeln
	in farbloser Flasche	in brauner Flasche	in farbloser Flasche	in brauner Flasche	
	Verbrauch der Hydroxylaminlösung für je 20 ccm Kupferlösung				
Tage	ccm	ccm	ccm	ccm	ccm
14	19,00	19,05	19,02	19,02	19,05
28	18,97	18,80	18,95	19,05	18,90
54	18,70	18,78	18,83	18,80	18,95

[1]) Jessen-Hansen, diese Zeitschr. 10, 252.

Hiernach zeigte 54 Tage lang dem direkten Sonnenlicht ausgesetzte Kupferlösung ca. 1,5 %ige und ebenso lange Zeit bei indirektem Sonnenlicht aufbewahrte ca. 1,0 %ige Abschwächung. Die im Dunkeln aufbewahrte zeigte dagegen fast keine Veränderung.

V. Haltbarkeit der Hydroxylaminlösung bei der Aufbewahrung.

Die Hydroxylaminlösung wurde genau ebenso wie die Kupferlösung mit Paraffin verschlossen aufbewahrt. Die Wertbestimmung wurde nach Pavy-Kumagawa-Suto ausgeführt. Die Mittelwerte von je 3 Bestimmungen sind in folgender Tabelle zusammengestellt.

Tabelle LX.

Haltbarkeit der Hydroxylaminlösung bei der Aufbewahrung. (Wertbestimmung nach Pavy-Kumagawa-Suto. Eine Probe der ammoniakalischen Kupferlösung entspricht 4,30 ccm Hydroxylaminlösung.)

Dauer der Aufbewahrung	Art der Aufbewahrung				
	im direkten Lichte		in indirektem Lichte		im Dunkeln
	in farbloser Flasche	in brauner Flasche	in farbloser Flasche	in brauner Flasche	
	Verbrauch der Hydroxylaminlösung für je eine Probe der Kupferlösung nach Pavy-Kumagawa-Suto				
Tage	ccm	ccm	ccm	ccm	ccm
14	4,40	4,31	4,30	4,30	4,30
27	4,46	4,34	4,29	4,30	4,29
53	4,55	4,42	4,30	4,30	4,30

Die dem direkten Lichte ausgesetzte Hydroxylaminlösung in der farblosen Flasche färbte sich deutlich rosarot. Die Farbe verschwand aber im Zimmer allmählich fast ganz. Ferner trat wolkiger weißer Niederschlag in geringer Menge auf.

Hiernach ist die Reduktionskraft derjenigen Lösungen, die dem direkten Lichte ausgesetzt worden sind, mit der Zeit allmählich abgeschwächt worden. Dagegen haben diejenigen, die im Zimmer oder im Dunkeln aufbewahrt worden sind, selbst nach 53 Tagen fast keine Abnahme der Reduktionskraft erlitten.

VI. Selbstreduktion der Bangschen Kupferlösung beim Kochen.

Wie gesagt, wird bei der Bangschen Methode der Titer der Hydroylaminlösung direkt in der Kälte (bei Zimmertemperatur) für die Kupferlösung eingestellt. Bei der eigentlichen

Zuckerbestimmung werden 50 ccm der Kupferlösung mit 10 ccm der zu prüfenden Zuckerlösung versetzt und 3 Minuten lang gekocht. Nachdem dann die Mischung rach bis zur Zimmertemperatur abgekühlt worden ist, wird das im Überschuß zugesetzte, durch Zucker nicht veränderte Kupferoxyd durch Hydroxylaminlösung zurücktitriert. Zur Erhaltung richtiger Resultate ist es demnach durchaus notwendig, daß die Bangsche Lösung durch das Sieden allein keine Spur von Selbstreduktion erleidet.

Hierüber sagt Bang, daß seine Kupferlösung in der Tat keine Selbstreduktion[1]) zeigt. Einen zahlenmäßigen Beweis dafür hat indessen Bang in keiner Publikation angeführt. Meine Untersuchungen über diesen wichtigsten Punkt in der ganzen Bangschen Methode haben nun andere Resultate ergeben. Ich habe bei diesen Untersuchungen den Zusatz der Hydroxylaminlösung absichtlich auf 80 ccm pro Minute vermehrt, damit die Bangsche Vorschrift[2]) womöglich befolgt wird. Über die von mir benutzte Kupferlösung bemerke ich noch, daß das hierzu verwendete reine Rhodankalium ganz frisch von Merck bezogen worden ist. Die Resultate sind in folgender Tabelle verzeichnet.

Tabelle LXI.

Selbstreduktion der Kupferlösung beim bloßen Kochen (a).

(Kupfer- und Hydroxylaminlösung genau 50 zu 50 ccm eingestellt. Titration sowohl bei der Titerstellung, wie nach dem Kochen mit einem Tempo von 80 ccm pro Minute bei 18°. 50 ccm Kupferlösung + 10 ccm H_2O genau 3 Minuten nach dem Sieden gekocht und rasch bis zur Zimmertemperatur abgekühlt.)

Versuchsnummer	Vorgelegte Kupferlösung ccm	Verbrauch der Hydroxylaminlösung ccm
1	50	48,30
2	50	48,35
3	50	48,50
4	50	48,50
5	50	48,80
Mittelwert . .	—	48,41

Differenz 50 — 48,41 = 1,59 ccm = 3,2%.

[1]) Diese Zeitschr. 2, 287.

[2]) Diese Zeitschr. 11, 539.

Demnach hat sich herausgestellt, daß die Bangsche Kupferlösung beim bloßen Kochen eine Selbstreduktion zeigt, die 3,2 °/₀ beträgt.

Im folgenden habe ich noch einmal diese Prüfung wiederholt, indem ich das Titrationstempo auf 10 ccm pro Minute verlangsamte.

Tabelle LXII.

Selbstreduktion der Kupferlösung beim Kochen (b).

Außer der Geschwindigkeitsverlangsamung des Hydroxylaminzusatzes auf 10 ccm pro Minute sind alle sonstigen Bedingungen ganz dieselben geblieben wie bei (a). Selbstverständlich wurde der Titer der Hydroxylaminlösung für dieses Tempo eingestellt.

Versuchs-nummer	Vorgelegte Kupferlösung ccm	Verbrauch der Hydroxylamin-lösung ccm
1	50	48,45
2	50	48,65
3	50	48,40
4	50	48,55
5	50	48,35
Mittelwert . .	—	48,48

Differenz 50 — 48,48 = 1,52 ccm = 3,0 °/₀.

Hiernach kann kein Zweifel mehr obwalten, daß die Bangsche Kupferlösung an sich durch bloßes Aufkochen von 3 minutiger Dauer eine Selbstreduktion erleidet, wodurch der Kupferwert um 3 bis 3,2 °/₀ herabgesetzt wird. Wie gleich unten beleuchtet wird, halte ich diese Selbstreduktion der Kupferlösung wesentlich für die gesuchte Fehlerquelle der Bangschen Methode.

7. Reoxydation der durch Zucker reduzierten Kupferlösung im Laufe der Abkühlung bis zur Titration.

Der Titer der Hydroxylaminlösung wurde zuerst durch den Zusatz der Rhodankaliumlösung (10 °/₀) so eingestellt, daß 50 ccm derselben genau 50 ccm der Kupferlösung + 10 ccm Wasser entsprechen, die nach 3 Minuten langem Kochen rasch bis zu 18° abgekühlt worden sind. Je 50 ccm der Kupferlösung + 10 ccm der d-Glucoselösung (0,5 °/₀ g/dl) wurden 3 Minuten lang gekocht.

Eine Reihe hiervon wurde rasch mit einem Gummipfropfen luftdicht verschlossen und eine andere Reihe einfach bei Luftzutritt so lange stehen gelassen, bis sich die beiden Proben von selber bis auf Zimmertemperatur (18°) abkühlen. Alsdann wurde die Titration wie gewöhnlich, mit einem Tempo von 10 ccm pro Minute, ausgeführt.

Versuch 1.

Tabelle LXIII.

Verbrauch an Hydroxylaminlösung zur Reduktion der mit Zucker gekochten Kupferlösung nach der freiwilligen Erkaltung derselben bei Zimmertemperatur (12 bis 16°) unter Luftabschluß.

Verwendete Kupferlösung ccm	Zugesetzte Zuckermenge mg	Verbrauchte Menge der Hydroxylaminlösung ccm	Zeitdauer der Abkühlung bis zu 18°
50	50	5,40	108′
50	50	5,30	132′
Mittelwert . . .	—	5,33	—

Versuch 2.

Tabelle LXIV.

Verbrauch an Hydroxylaminlösung zur Reduktion der mit Zucker gekochten Kupferlösung nach der freiwilligen Erkaltung derselben bei Zimmertemperatur (15 bis 16°) unter Luftzutritt.

Verwendete Kupferlösung ccm	Zugesetzte Zuckermenge mg	Verbrauchte Menge der Hydroxylaminlösung ccm	Zeitdauer der Abkühlung bis zu 18°
50	50	8,35	101′
50	50	8,30	95′
Mittelwert . . .	—	8,33	—

Die Resultate der beiden obigen Versuche sind zur Übersicht in einer Tabelle zusammengestellt.

Tabelle LXV.

Freiwillige Erkaltung	Verbrauch der Hydroxylaminlösung ccm	Aus der Bangschen Tabelle berechnete Zuckermenge g/dl
Bei Luftabschluß . . .	5,35	0,510
Bei Luftzutritt	8,33	0,458
Differenz	3,02	0,052

Es hat sich demnach ergeben, daß die durch Zucker reduzierte Kupferlösung bei freiwilliger Erkaltung zur Erreichung der Zimmertemperatur beinahe 2 Stunden erforderte und im Laufe dieser Zeit beim Luftzutritt eine Reoxydation erlitten hat, die nach der Bangschen Tabelle berechnet eine scheinbare Abnahme des Kupferwertes um 9,8 % verursacht. Dies zeigt uns indessen nur, daß sich die reduzierte Kupferlösung beim Luftzutritt im Laufe von 2 Stunden beträchtlich reoxydiert. Bei der Bangschen Methode wird aber die Mischung nach dem Kochen rasch bis zur Zimmertemperatur abgekühlt. Es ist deshalb notwendig festzustellen, ob in der reduzierten Kupferlösung eine Reoxydation durch die rasche Abkühlung derselben nach dem Kochen gänzlich beseitigt wird.

Hierzu wurden je 50 ccm der Kupferlösung mit je 10 ccm der Zuckerlösung mit der Konzentration von 0,1 g/dl in der zweiten Reihe versetzt und wie üblich 3 Minuten lang gekocht.

Alsdann wurde der Kolben mit der Mischung im Kühlbade rasch bis auf 18° abgekühlt, indem man Leitungswasser von 10° kontinuierlich hineinströmen ließ. In jeder Versuchsreihe wurden je 4 Proben bei Luftabschluß und je 4 andere Proben bei Luftzutritt abgekühlt. Während der Abkühlung wurde die eine Hälfte stark geschüttelt, die andere Hälfte blieb dagegen ruhig im Kühlbade.

Versuch 1.

Tabelle LXVI.

Verbrauch an Hydroxylaminlösung zur Reduktion der mit Zucker gekochten Kupferlösung nach der ruhigen Erkaltung derselben im Kühlbade (10°) bei Luftzutritt.

Verwendete Kupferlösung ccm	Zugesetzte Zuckermenge mg	Verbrauchte Menge der Hydroxylaminlösung ccm	Zeitdauer der Abkühlung bis zu 18°
50	50	5,45	5′
50	50	5,45	4′ 30″
Mittelwert . . .	—	5,45	—

Versuch 2.

Tabelle LXVII.

Verbrauch an Hydroxylaminlösung zur Reduktion der mit Zucker gekochten Kupferlösung nach der ruhigen Erkaltung derselben im Kühlbade (10°).

Verwendete Kupferlösung ccm	Zugesetzte Zuckermenge mg	Verbrauchte Menge der Hydroxylaminlösung ccm	Zeitdauer der Abkühlung bis zu 18°
50	50	5,30	5′ 30″
50	50	5,35	5′
Mittelwert . . .	—	5,33	—

Versuch 3.

Tabelle LXVIII.

Verbrauch an Hydroxylaminlösung zur Reduktion der mit Zucker gekochten Kupferlösung nach der Erkaltung derselben im Kühlbade (10°) unter starker Schüttelung bei Luftzutritt.

Verwendete Kupferlösung ccm	Zugesetzte Zuckermenge mg	Verbrauchte Menge der Hydroxylaminlösung ccm	Zeitdauer der Abkühlung bis zu 18°
50	50	5,25	2′ 20″
50	50	5,30	2′
Mittelwert . . .	—	5,28	—

Versuch 4.

Tabelle LXIX.

Verbrauch an Hydroxylaminlösung zur Reduktion der mit Zucker gekochten Kupferlösung nach der Erkaltung derselben im Kühlbade (10°) unter starker Schüttelung bei Luftabschluß.

Verwendete Kupferlösung ccm	Zugesetzte Zuckermenge mg	Verbrauchte Menge der Hydroxylaminlösung ccm	Zeitdauer der Abkühlung bis zu 18°
50	50	5,25	2′ 40″
50	50	5,25	2′ 30″
Mittelwert . . .	—	5,25	—

Die Resultate der 4 obigen Versuche sind in einer Tabelle vereinigt.

Tabelle LXX.

Reoxydation der Kupferlösung (b).

Versuchsreihe mit 50 ccm Kupferlösung + 10 ccm Zuckerlösung von 0,5 g/dl.

Art der Abkühlung		Verbrauch der Hydroxylamin-lösung ccm	Aus Bangscher Tabelle berechnete Zuckermenge g/dl
Ruhig stehen gelassen	Luftabschluß	5,33	0,510
	Luftzutritt	5,45	0,508
	Differenz	0,12	0,002
Stark geschüttelt	Luftabschluß	5,25	0,512
	Luftzutritt	5,28	0,511
	Differenz	0,03	0,001

Die Wertverschiebung der Zuckermenge durch die Reoxydation beträgt hier nur 0,2 bis 0,4 $^0/_0$. Demnach kann die Reoxydation durch die rasche Abkühlung derart beseitigt werden, daß man dieselbe praktisch ganz vernachlässigen kann. Die Zeitdauer der Abkühlung wurde durch starkes Schütteln etwa auf die Hälfte reduziert.

Zum Schluß habe ich noch eine Versuchsreihe angestellt, bei der 10 ccm der d-Glucoselösung mit der Konzentration von 0,1 g/dl verwendet wurden.

Versuch 1.

Tabelle LXXI.

Verbrauch an Hydroxylaminlösung zur Reduktion der mit Zucker gekochten Kupferlösung nach der ruhigen Erkaltung derselben im Kühlbade (10°) bei Luftzutritt.

Verwendete Kupferlösung ccm	Zugesetzte Zuckermenge mg	Verbrauch der Hydroxylamin-lösung ccm	Zeitdauer der Abkühlung bis zu 18°
50	10	37,55	5′ 20″
50	10	37,45	4′ 52″
Mittelwert . . .	—	37,50	—

Versuch 2.

Tabelle LXXII.

Verbrauch an Hydroxylaminlösung zur Reduktion der mit Zucker gekochten Kupferlösung nach der ruhigen Erkaltung derselben im Kühlbade (10°) bei Luftabschluß.

Verwendete Kupferlösung ccm	Zugesetzte Zuckermenge mg	Verbrauch der Hydroxylaminlösung ccm	Zeitdauer der Abkühlung bis zu 18°
50	10	37,20	5′ 30″
50	10	37,10	5′ 2″
Mittelwert . . .	—	37,15	—

Versuch 3.

Tabelle LXXIII.

Verbrauch an Hydroxylaminlösung zur Reduktion der mit Zucker gekochten Kupferlösung nach der Erkaltung derselben im Kühlbade (10°) unter starker Schüttelung bei Luftzutritt.

Verwendete Kupferlösung ccm	Zugesetzte Zuckermenge mg	Verbrauch der Hydroxylaminlösung ccm	Zeitdauer der Abkühlung bis zu 18°
50	10	37,50	1′ 55″
50	10	37,45	1′ 50″
Mittelwert . . .	—	37,48	—

Versuch 4.

Tabelle LXXIV.

Verbrauch an Hydroxylaminlösung zur Reduktion der mit Zucker gekochten Kupferlösung nach der Erkaltung derselben im Kühlbade (10°) unter starker Schüttelung bei Luftabschluß.

Verwendete Kupferlösung ccm	Zugesetzte Zuckermenge mg	Verbrauch der Hydroxylaminlösung ccm	Zeitdauer der Abkühlung bis zu 18°
50	10	37,45	1′ 45″
50	10	37,45	1′ 55″
Mittelwert . . .	—	37,45	—

Die Resultate der 4 obigen Versuche sind in einer Tabelle vereinigt.

Tabelle LXXV.

Reoxydation der Kupferlösung (c).

Versuchsreihe mit 50 ccm Kupferlösung + 10 ccm Zuckerlösung von 0,1 g/dl.

Art der Abkühlung		Verbrauch der Hydroxylaminlösung ccm	Aus Bangscher Tabelle berechnete Zuckermenge g/dl
Ruhig stehen gelassen	Luftabschluß	37,15	0,113
	Luftzutritt	37,50	0,109
	Differenz	0,35	0,004
Stark geschüttelt	Luftabschluß	37,45	0,110
	Luftzutritt	37,48	0,109
	Differenz	0,03	0,001

In diesen Fällen beträgt die Größe der Reoxydation bei Luftzutritt etwa 4%. Da indessen die absolute Differenz in der Zuckermenge nur 4 mg beträgt, was dem Befunde bei 0,5 g/dl in absoluter Menge beinahe gleich kommt, so halte ich es für richtiger, anzunehmen, daß die Reoxydation auch hier praktisch vernachlässigt werden kann.

Schlußbetrachtung.

Nachdem fast alle einzelnen Phasen der Bangschen Methode durchgeprüft worden sind, müssen zur Aufklärung ihrer Fehlerquellen nach meiner Ansicht wesentlich drei Momente in Betracht gezogen werden, nämlich 1. Einfluß der Titrationsgeschwindigkeit, 2. Einfluß der Temperatur der Kupferlösung zur Zeit der Titration und 3. Selbstreduktion der Kupferlösung. Da weitere Punkte kaum eine Rolle zu spielen scheinen, so werden dieselben nicht weiter berücksichtigt.

Was die Titrationsgeschwindigkeit anbelangt, so habe ich in Übereinstimmung mit Jessen-Hansen festgestellt, daß infolge der Geschwindigkeitsänderung der Titration eine Wertverschiebung der Hydroxylaminlösung maximal um 5,2 bis 6,8% stattfindet. Indessen halte ich dieses Moment für keine wesentliche Fehlerquelle, weil man in der Regel sowohl bei der Titerstellung wie bei der Zuckerbestimmung mit beinahe gleichem Tempo titrieren wird.

Betreffs der Temperatur der Kupferlösung bei der Titration macht Bang keine bestimmte Angabe und sagt darüber einfach, daß die Titration „in der Kälte oder bei der Stubentemperatur“ ausgeführt wird. Ich habe indes gefunden, daß bei der Titration zwischen 10° und 30° eine Wertverschiebung der Hydroxylaminlösung maximal um 7,8 % stattfindet. Trotzdem halte ich auch dieses Moment nicht für die wesentlichste Fehlerquelle der Methode, weil man für gewöhnlich bei annähernd gleicher Zimmertemperatur titrieren dürfte. Man muß sich aber darüber klar sein, daß die bei einer bestimmten Zimmertemperatur für die Kupferlösung eingestellte Hydroxylaminlösung nicht ohne weiteres bei einer ganz anderen Zimmertemperatur verwendet werden darf.

Wie schon oben bemerkt, halte ich für die wesentliche Fehlerquelle die Selbstreduktion der Kupferlösung beim Sieden für sich. Die Größe derselben beträgt nach meiner Bestimmung 3 bis 3,2 %. Da aber dieselbe in allen Fällen in fast konstanter Größe auftritt, so würde die hierdurch bedingte Fehlergröße prozentisch um so größer werden, je geringer der Zuckergehalt der zu prüfenden Flüssigkeit ist. Um zu sehen, ob diese Voraussetzung wirklich zutrifft, habe ich im folgenden versucht, zu prüfen, ob die oben angeführte Fehlergröße sich durch die Elimination des Faktors für die Selbstreduktion beseitigen läßt. Hierbei sind nun zwei Fälle möglich. Einmal könnte die der Gesamtmenge des Kupferoxyds entsprechende Selbstreduktion bei allen Zuckerlösungen mit verschiedener Konzentration die konstante Fehlerquelle bilden. Im anderen Falle könnte die Selbstreduktion desjenigen Anteils des Kupferoxyds, der durch Zucker nicht reduziert worden ist, allein die eigentliche Fehlerquelle bilden. Aus diesen Überlegungen habe ich einmal an allen Proben mit verschiedenen Zuckerkonzentrationen ein und dieselbe Korrektion angebracht, indem ich der bei der Titration verbrauchten Menge der Hydroxylaminlösung noch 1,52 ccm hinzugefügt, die der Selbstreduktion des Gesamtkupferoxyds entspricht (Korrektion I). Andererseits habe ich die Selbstreduktion für den vom Zucker übrig gelassenen Anteil des Kupferoxyds allein korrigiert, indem ich die bei der Titration verbrauchte Menge Hydroxylaminlösung mit dem Quotienten $50/48,48 = 1,0314$ multiplizierte (Korrektion II).

Korrektion I.

Tabelle.

Die der Gesamtmenge des Kupferoxyds entsprechende Selbstreduktion ist eliminiert.

Konzentration der verwendeten d-Glucoselös. g/dl	Verbrauchte Menge der Hydroxylaminlösung ccm	Als Korrektion 1,52 ccm Hydroxylaminlösung zugerechnet	Zuckermenge, nach Bangscher Tabelle berechnet g/dl	Abweichung der gefundenen Zuckermenge von der verbrauchten d-Glucose	Fehlergröße %
0,50	5,44	6,96	0,481	−0,019	−3,8
0,40	11,71	13,23	0,387	−0,013	−3,3
0,35	15,03	16,55	0,344	−0,006	−1,7
0,30	18,95	20,47	0,296	−0,004	−1,3
0,25	23,10	24,62	0,245	−0,005	−2,0
0,20	27,59	29,11	0,195	−0,005	−2,5
0,10	37,49	39,03	0,094	−0,006	−6,0

Korrektion II.

Tabelle.

Nur an denjenigen Teil des Kupferoxyds, der durch Zucker nicht reduziert worden ist, wurde die Korrektion angebracht.

Konzentration der verwendeten d-Glucoselös. g/dl	Verbrauchte Menge der Hydroxylaminlösung ccm	Als Korrektion mit 1,0314 multipliziert	Zuckermenge, nach Bangscher Tabelle berechnet g/dl	Abweichung der gefundenen Zuckermenge von der verwendeten d-Glucose	Fehlergröße %
0,50	5,44	5,61	0,505	+0,005	+1,0
0,40	11,71	12,08	0,403	+0,003	+0,8
0,35	15,03	15,50	0,358	+0,008	+2,2
0,30	18,95	19,54	0,307	+0,007	+2,3
0,25	23,10	23,82	0,254	+0,004	+1,6
0,20	27,59	28,45	0,202	+0,002	+1,0
0,10	37,49	38,66	0,097	−0,003	−3,0

Die so korrigierten beiden Werte sind zum Vergleich mit den eigentlichen Fehlergrößen in die folgende Tabelle eingetragen worden.

Wie diese zeigt, ist meine Voraussetzung zum großen Teil bestätigt worden, insofern, als die Fehlergrößen nach Bang durch die Elimination der Selbstreduktion des nicht durch Zucker reduzierten Anteils des Kupferoxyds im großen und ganzen beseitigt worden sind. Die noch zurückgebliebenen

Fehlergrößen rühren wohl entweder von der Schwankung der Titrationsgeschwindigkeit oder von der Verschiedenheit der Temperatur der Kupferlösung zur Zeit der Titration oder noch wahrscheinlicher von der Kombination der beiden Momente her. Daß indessen der Fehler bei der schwachen Konzentration der Zuckerlösung von 0,1 g/dl nach der Korrektion infolge Überkompensation nach der entgegengesetzten Richtung umgeschlagen ist, läßt sich insbesondere auf die Unsicherheit der Titration bei verdünnter Zuckerlösung zurückführen; denn der Eintritt der Endreaktion wird bei größerem Hydroxylaminverbrauch in einem breiten Spielraum verschoben.

Tabelle.

Übersichtstabelle zum Vergleich der ursprünglichen Fehlergrößen mit den korrigierten Werten.

Konzentration der Zuckerlösung g/dl	Ursprüngliche Fehlergröße %	Korrigierte Werte I %	Korrigierte Werte II %
0,50	+ 1,6	− 3,8	+ 1,0
0,40	+ 2,0	− 3,3	+ 0,8
0,35	+ 4,0	− 1,7	+ 2,2
0,35	+ 5,0	− 1,3	+ 2,3
0,20	+ 5,6	− 2,0	+ 1,6
0,20	+ 5,5	− 2,5	+ 1,0
0,10	+ 9,0	− 6,0	+ 3,0

Als Gesamtresultat meiner Untersuchungen darf ich wohl aussprechen, daß die Titrationsmethode von Bang je nach dem Zuckergehalt der zu prüfenden Flüssigkeit einen beträchtlichen Fehler nach der positiven Seite, bis 9%, aufweist, dessen Ursache im wesentlichen in der Selbstreduktion der Bangschen Kupferlösung gelegen ist.

Einfluß der Kohlensäure auf den Chlorstoffwechsel.

Von

E. Laqueur und J. Snapper.

(Aus dem Physiologischen Institut in Groningen.)

(Eingegangen am 17. Mai 1913.)

Der Ausgangspunkt für diese Untersuchung über den Zusammenhang zwischen Kohlensäurevergiftung und Chlorstoffwechsel war ein Versuch Hamburgers. Er stellte darin in vitro eine Chlorverschiebung aus dem Serum nach den Blutkörperchen fest, wenn Säure (auch CO_2) dem Blute zugesetzt wurde[1]. Hierbei findet gleichzeitig eine Wasserverschiebung statt, denn die Blutkörperchen schwellen. Eine Bestätigung erfuhren diese Befunde kürzlich durch den einen von uns[2].

Eine allgemeine Bedeutung schien dem Hamburgerschen Versuche zuzukommen, da er auch bei anderen Zellen zu ähnlichem Resultat führte. So wies Hamburger bei Organzellen (Nieren-, Leber-, Lymphdrüsenzellen), die in Serum suspendiert waren, nach Zusatz von Säure eine Chlor- und Wasserverschiebung nach. Hamburger suchte nun weiter festzustellen, ob diese im Reagensglase gefundenen Verhältnisse auch im Leben gelten. Zu diesem Zwecke injizierte er intravenös Schwefelsäure und erhielt beim Pferde — aber nur bei diesem — in der Tat eine Verarmung des Serums an Chlor. Beim Rinde dagegen konnte er diesen Befund nicht erheben; desgleichen gelang dies dem einen von uns auch bei Hund, Ziege und Kaninchen nicht[2], worauf wir am Schluß noch kurz zurückkommen.

Nach den Ergebnissen Hamburgers in vitro — vor allem mit CO_2 — war es aber durchaus möglich, daß stundenlange Einatmung von CO_2, im Gegensatz zu dem Ausbleiben der

[1]) Hamburger, Osmotischer Druck und Ionenlehre. Bd. I, S. 206.

[2]) Snapper, Dissert. Groningen. 1913. (Holländ.)

Chlorverschiebung bei den meisten Tieren nach den kurzdauernden Säureinjektionen, ein positives Ergebnis herbeiführen würde. Denn Folgen brüsker Eingriffe, wie intravenöse Säureinjektionen, sind nicht ohne weiteres in Parallele zu setzen mit langsam entstehenden und langanhaltenden Veränderungen: es könnte daher CO_2-Anhäufung ein positives Resultat ergeben, d. h. eine Chlorverarmung des Serums herbeiführen.

Der Einfluß einer derartigen Chlorverminderung des Serums auf den Chlorstoffwechsel müßte ein ganz auffälliger sein. Denn Magnus[1]) hat schon vor mehreren Jahren den Satz ausgesprochen, daß die Nieren das NaCl erst ausscheiden, wenn der NaCl-Gehalt des Serums ein gewisses Minimum übersteigt. Magnus' Vermutung ist in der jüngsten Zeit glänzend bestätigt, seitdem Weill und Moréno[2]) die Gesetze der NaCl-Ausscheidung näher berechnet haben. Wir wissen jetzt, daß eine Erniedrigung des Chlorgehaltes des Serums von einer verringerten Chlorausscheidung im Urin gefolgt ist.

Wenn also die Hypothese über die Chlorverschiebung aus den Körperflüssigkeiten nach den Geweben unter Einfluß von Säuren richtig wäre, so müßte nach CO_2-Einatmung durch die Chlorverarmung des Serums die Chlorausscheidung im Urin heruntergehen.

Die CO_2-Anhäufung war durch längere Einatmung von Gemischen von Luft und CO_2 bequem herbeizuführen. Wir benutzten hierzu dieselbe Apparatur und die gleichen Versuche, an denen der eine von uns den Einfluß der Kohlensäure auf den Stickstoff-Stoffwechsel untersuchte[3]). Wegen aller Einzelheiten, Berechnung der CO_2-Konzentration in der Einatmungsluft in den einzelnen Stunden, des höchsten Wertes, usw. sei auf die zitierte Arbeit verwiesen.

Methodik.

Die Tiere (Kaninchen) wurden ausschließlich mit Milch gefüttert oder sie hungerten bei Wasserdarreichung. Für den Chlorstoffwechsel wurde nur das Chlor im Urin bestimmt, weil, wie allgemein bekannt, die Chlormengen, die mit den Faeces

[1]) Magnus, Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol. **44**, 1900.
[2]) Weill und Moréno, Semaine méd. **1912**.
[3]) Laqueur, Zeitschr. f. physiol. Chem. **84**, 117, 1913.

den Körper verlassen, nur minimal sind, wie wir auch bestätigen konnten.

Die Methodik der Chlortitration war die Visser-Korányische Modifikation der Volhardschen Methode[1]).

Auf die tägliche Chlorbestimmung der Milch haben wir in den meisten Fällen verzichtet. Wir nehmen als Mittelwert einen Chlorgehalt von 1,06 $^0/_{00}$ an, den wir aus einer Reihe Milchanalysen erhielten. Zuvor fanden wir — wenn auch selten — Schwankungen von 10 $^0/_0$ nach unten oder oben, aber die natürlichen Schwankungen der Chlorausscheidung sind so groß, daß 10 $^0/_0$ nicht in Betracht kommen.

Um die Kohlensäure auf die Tiere einwirken zu lassen, wurden sie in einen Blechkasten gesetzt, durch den das Gasgemisch geleitet wurde. Die CO_2-Konzentrationen wechselten zwischen 3 bis 24 $^0/_0$: diese Konzentrationen sind zum Teil sicher für die Tiere nicht indifferent, was aus der Beeinflussung des N-Stoffwechsels hervorgeht. Dosen über 10 $^0/_0$ steigern im allgemeinen deutlich die Eiweiß-Zersetzung[2]).

Für Versuche über den Chlorstoffwechsel scheinen zunächst Kaninchen nach Erfahrungen aus der älteren Literatur nicht sehr geeignet, weil diese Tiere zuweilen Chlor retinieren, um es dann krisenartig auszuscheiden (Voit). Auch wir konnten diese Erfahrungen machen, obwohl wir durch die Art unserer Ernährung (Milch) die für Stoffwechselversuche ungünstigen Momente, wie verlangsamte Resorption, schlechte Ausnützung, geringe Durchspülung, auf ein Minimum reduziert hatten. Ein Überblick über unsere Tabellen zeigt, daß die Tiere bei Milchnahrung innerhalb eines längeren Zeitraumes (14 bis 21 Tage) sich nicht allzusehr vom Cl-Gleichgewicht entfernen. 3 Tiere retinieren in dieser Zeit 0,66 bzw. 0,34 bzw. 0,02 g Cl; die drei anderen scheiden 0,68 bzw. 0,26 bzw. 0,11 g Cl mehr aus.

Die täglichen Schwankungen sind aber ziemlich beträchtlich. Die Erkennbarkeit von Einflüssen auf den Cl-Stoffwechsel

[1]) 10 ccm zehnfach verdünnten Urin + 5 ccm HNO_3 + 5 ccm $AgNO_3$. Kochen unter Zusatz von Kaliumpermanganat, bis die braune Farbe nicht mehr verschwindet. Entfärben mit Oxalsäure. Nach Abkühlen und mehrstündigem Stehen wird das $AgNO_3$ mit Rhodan-Ammonium, Eisen-Ammoniakalaun als Indicator, zurücktitriert. Vgl. Snapper, diese Zeitschr. **51**, 56.

[2]) Laqueur, l. c.

ist dadurch erschwert, indem sich solche Einflüsse nur in einer Vergrößerung bzw. Verkleinerung der spontanen Schwankungen zeigen können. — Hätte also die Kohlensäure einen positiven Einfluß im obigen Sinne, d. h. bewirkte sie Cl-Retentionen, so müßte bei 14 Versuchen an bzw. nach den Versuchstagen mehr Neigung zu Retentionen bestehen als vor den Versuchstagen; ist dagegen die Kohlensäure indifferent, so werden annähernd ebenso viele Versuche von einer Retention wie von einer Mehrausscheidung im Vergleich zu den Bilanzen der vorhergehenden Tage gefolgt sein.

Da nach den sonstigen Erfahrungen bei Stoffwechselversuchen an Kaninchen Zeiträume von 24 Stunden oft zu klein sind, um ein vollständiges Bild über die stattgehabten Stoffwechselverschiebungen zu geben, so ist es besser, neben den täglichen Bilanzen auch noch 2 bis 3 tägige Perioden zusammenzufassen und zu vergleichen. Am Schluß jeder Tabelle über die einzelnen Versuchstiere ist dies geschehen.

Kaninchen I[1]).

Datum	Bemerkungen	Gewicht g	Aufgenommene Milch ccm	Urin ccm	Chlor-Einnahme mg	Chlor-Ausgabe mg	Chlor-Bilanz mg
6.—7. VI.		2920	473	—	502	570	— 68
7.—8.		3010	570	—	605	420	+ 185
8.—9.		2910	529	—	560	882	— 322
9.—10.		2950	577	—	614	362	+ 352
10.—11.		3010	384	—	407	541	— 134
11.—12.		2920	396	—	420	432	— 12
12.—13.		2980	445	140	472	295	+ 177
13.—14.		2880	548	370	582	544	+ 38
14.—15.		2830	558	340	592	637	— 45
15.—16.		2840	562	325	596	492	+ 104
16.—17.		2860	565	320	600	539	+ 61
17.—18.		2900	605	354	642	525	+ 117
18.—19.		2870	544	290	578	574	+ 4
19.—20.		2800	563	300	597	607	— 10
20.—21.		2830	570	300	605	496	+ 109
21.—22.		2810	530	215	561	510	+ 15
22.—23.		2840	551	340	585	481	+ 104

[1]) Zu dieser und den folgenden Tabellen sei bemerkt, daß z. B. in der Zeile mit dem Datum 6.—7. VI. das Gewicht am 7. VI. früh bestimmt ist, die Einnahmen und Ausgaben zwischen 6. VI. früh und 7. VI. früh stattgefunden haben.

Kaninchen I (Fortsetzung).

Datum	Bemerkungen	Gewicht g	Aufgenommene Milch ccm	Urin ccm	Chlor-Einnahme mg	Chlor-Ausgabe mg	Chlor-Bilanz mg
23.—24.	Versuch F[1]). 4 Stunden bei 5,9%. Höchster CO_2-Gehalt 7%.	2800	540	574	350	560	+ 14
24.—25.		2630	499	529	160	629	— 100
25.—26.		2820	527	558	265	332	+ 226
26.—27.		2820	460	488	340	460	+ 28
27.—28.		2710	500	530	270	660	— 130

Die Beobachtungszeit bei Kaninchen I beträgt 21 Tage. In dieser Periode werden 12,21 g Cl aufgenommen und 11,55 g abgegeben; das Tier hat also 0,66 g retiniert.

Um den Einfluß des Aufenthaltes im Kasten, während der Kohlensäuregehalt der Luft 6% betrug, zu erforschen, wurden nicht nur die Bilanzen des Tages vor und nach dem Versuch verglichen, es wurden vielmehr, um noch etwaige Einflüsse nach 2 oder 3 Tagen aufzudecken, auch die Bilanzen von 2 und 3 Tagen vor und nach dem Versuch zusammengefaßt. Das Resultat erhellt aus dem folgenden:

Vor dem Versuch	Bilanz	Nach dem Versuch	Bilanz
1. Tag	+ 104 mg	1. Tag	+ 14 mg
1. u. 2. Tag . . .	+ 155 „	1. u. 2. Tag . . .	— 86 „
1., 2. u. 3. Tag . .	+ 264 „	1., 2. u. 3. Tag . .	+ 140 „

Bei diesem Versuche ist das Resultat, daß immer die Bilanzen nach dem Versuche weniger positiv sind als zuvor: nach dem Versuche ist also eine Mehrausscheidung von Chlor vorhanden, während, wie sich aus der Haupttabelle ergibt, gleichzeitig Wasser retiniert wird.

Kaninchen II.

Datum	Bemerkungen	Gewicht g	Aufgenommen Milch ccm	Urin ccm	Chlor-Einnahme mg	Chlor-Ausgabe mg	Chlor-Bilanz mg
7.–8. VI.		3090	711	—	755	741	+ 14
8.–9.		3100	530	—	563	562	+ 1
9.–10.		3260	600	—	636	641	— 5
10.–11.		3160	608	—	645	551	+ 94

[1]) Der Versuch ist also angestellt am 23. VI.

Kaninchen II (Fortsetzung).

Datum	Bemerkungen	Gewicht g	Aufgenommene Milch ccm	Urin ccm	Chlor-Einnahme mg	Chlor-Ausgabe mg	Chlor-Bilanz mg
11.–12.		3170	546	—	579	607	— 28
12.–13.		3120	615	375	652	621	+ 31
13.–14.		3130	610	342	647	734	— 87
	Versuch D. 3 Stunden bei 5% CO_2. Höchste CO_2-Konzentration 6%.						
14.–15.		3110	554	350	593	548	+ 45
15.–16.		3120	610	345	647	593	+ 44
16.–17.		3110	570	280	605	539	+ 66
17.–18.		3070	640	390	679	677	+ 2
	Versuch E. 4 Stunden bei 6,8% CO_2. Höchste CO_2-Konzentration 8,2%.						
18.–19.		3130	576	330	611	563	+ 48
19.–20.		3090	278	175	295	307	— 12
20.–21.		3060	574	280	609	390	+ 219
21.–22.		3080	600	330	636	640	— 4
22.–23.		3110	639	395	678	739	— 61
23.–24.		3140	567	375	601	700	— 99
24.–25.		3150	629	360	667	559	+ 108
	Versuch G. 3½ Std. bei 7,0% CO_2. Höchste CO_2-Konzentration 8%.						
25.–26.		3100	625	255	663	705	— 42
26.–27.		3070	623	315	660	553	+ 107
27.–28.		3060	579	340	614	728	— 114

Bei Kaninchen II wurde der Chlorumsatz während 22 Tagen verfolgt. In dieser Periode wurden aufgenommen 13,03 g Chlor, abgegeben 12,79 g; im ganzen wurden also 0,34 g Chlor retiniert.

Der Vergleich der Chlorbilanzen vor und nach den Versuchen ergibt das folgende Resultat:

Versuch D (5% CO_2).

Vor dem Versuch	Bilanz	Nach dem Versuch	Bilanz
1. Tag	— 87 mg	1. Tag	+ 45 mg
1. u. 2. Tag	— 56 „	1. u. 2. Tag	+ 89 „
1., 2. u. 3. Tag	— 84 „	1., 2. u. 3. Tag	+ 155 „

Nach dem Versuch sind die Bilanzen viel mehr positiv als vorher: also nach dem Versuch Chlorretention. Stickstoff- und Wasserstoffwechsel unbeeinflußt.

Versuch E (6,8% CO_2).

Vor dem Versuch	Bilanz	Nach dem Versuch	Bilanz
1. Tag	+ 2 mg	1. Tag	+ 48 mg
1. u. 2. Tag . . .	+ 68 „	1. u. 2. Tag . . .	+ 36 „
1., 2. u. 3. Tag . .	+ 112 „	1., 2. u. 3. Tag . .	+ 255 „

Nach dem Versuch ist, wenn man 2 Tage zusammennimmt, etwas mehr ausgeschieden. Wenn man aber nur 1 Tag nimmt oder 3 Tage zusammen, dann findet man eine Chlorretention. Die Wasserausscheidung ist unbeeinflußt.

Versuch G (7,0% CO_2).

Vor dem Versuch	Bilanz	Nach dem Versuch	Bilanz
1. Tag	+ 108 mg	1. Tag	— 42 mg
1. u. 2. Tag . . .	+ 9 „	1. u. 2. Tag	+ 65 „
1., 2. u. 3. Tag . .	— 52 „	1., 2. u. 3. Tag . . .	— 49 „

Nimmt man 1 Tag vor und nach dem Versuch, dann findet sich eine Mehrausscheidung, nimmt man 2 Tage zusammen, dann eine Retention. Faßt man 3 Tage zusammen, so ist kein Einfluß zu sehen. Nach dem Versuch ist eine deutliche Wasserretention vorhanden.

Kaninchen III.

Datum	Bemerkungen	Gewicht g	Aufgenommen ccm	Urin ccm	Chlor-Einnahme mg	Chlor-Ausgabe mg	Chlor-Bilanz mg
			1% Zuckerwasser				
17.–18. XI.	6. Hungertag.	3450	100	50	∅	79	— 79
18.–19.	Versuch J. 6½ Std. bei 12,2% CO_2. Höchste CO_2-Konzentration 14%.	3450	229	165	∅	?	?
19.–20.		3350	140	140	∅	138	— 138
20.–21.		3280	152	120	∅	50	— 50
21.–22.		3220	173	130	∅	23	— 23
22.–23.		3160	453	260	∅	28	— 28
			Milch				
23.–24.		3330	680	410	723	592	+ 131
24.–25.		3390	697	420	741	508	+ 233
25.–26.		3370	633	535	574	726	— 152
26.–27.		3390	641	450	681	774	— 93
27.–28.		3440	709	540	754	1236	— 482

Kaninchen III (Fortsetzung).

Datum	Bemerkungen	Gewicht g	Aufgenommen ccm	Urin ccm	Chlor-Einnahme mg	Chlor-Ausgabe mg	Chlor-Bilanz mg
28.–29.	Versuch N. 6½ Std. bei 13,2 % CO_2. Höchste CO_2-Konzentration 17,5 %.	3460	590	390	626	742	– 116
29.–30.		3490	698	390	740	523	+ 217
30. XI. bis 1. XII.		3530	705	560	748	708	+ 40
1.–2. XII.		3640	692	451	735	717	– 18
2.–3.		3690	686	511	728	700	+ 28
3.–4.	Versuch P, unter N_2-Zusatz. 6 Std. bei nur 17,2 % O_2. Niedrigste O_2-Konzentration 16,1 %.	3670	654	528	694	726	– 32
4.–5.		3685	660	510	700	?	?
5.–6.		3600	672	451	712	?	?
6.–7.		3680	457	200	485	?	?
7.–8.		3760	663	350	704	474	+ 230
8.–9.		3680	694	621	736	856	– 120
9.–10.		3780	698	340	740	510	+ 230
10.–11.		3740	697	606	739	929	– 190
11.–12.		3750	650	451	690	?	?
12.–13.		3770	655	450	695	608	+ 87
13.–14.		3630	500	455	530	667	– 137
			1 % Zuckerwasser				
14.–15. II.	Hunger.	3550	100	60	Ø	33	– 33
15.–16.		3630	230	63	Ø	75	– 75
16.–17.		3520	325	310	Ø	54	– 54
			1 % Zucker + 0,5 % NaCl				
17.–18.		3460	493	420	1479	852	+ 627
18.–19.		3380	495	492	1485	1092	+ 393
19.–20.	Versuch R. 6½ Std. bei 12,8 % CO_2. Höchste CO_2-Konzentration 15,5 %.	3260	484	520	1452	1081	+ 371
20.–21.		3250	500	447	1500	1114	+ 386
21.–22.		3160	495	480	1485	?	?
22.–23.		3270	265	165	795	705	+ 90
23.–24.		3130	470	397	1410	1018	+ 392

Bei Kaninchen III wurde der Chlorumsatz während 33 Tage verfolgt: davon 16 Tage Hunger und 17 Tage Milchfütterung. In der letzten Periode wurden aufgenommen 11,888 mg Chlor, abgegeben 11,996 mg Chlor. Das Tier war also fast im Chlorgleichgewicht.

Versuch N (13,2 %).

Vor dem Versuch	Bilanz	Nach dem Versuch	Bilanz
1. Tag	— 482 mg	1. Tag	— 116 mg
1. u. 2. Tag . . .	— 575 „	1. u. 2. Tag . . .	+ 101 „
1., 2. u. 3. Tag . .	— 727 „	1., 2. u. 3. Tag . .	+ 141 „

Also deutliche Chlorretention. Auch eine Wasserretention ist deutlich.

Bei Versuch J (Hungerperiode) fehlt leider die Analyse des Tages vor dem Versuch. Nach dem Versuch werden aber 138 mg Cl ausgeschieden, eine Zahl, die viel größer ist, als gewöhnlich am 7. Hungertag gefunden wird (20 bis 40 mg). Man kann hier gewiß von einer Chlor-Mehrausscheidung sprechen.

Bei Versuch R (15,5 % CO_2) ergibt sich folgendes.

Vor dem Versuch	Bilanz	Nach dem Versuch	Bilanz
1. Tag	+ 393 mg	1. Tag	+ 371 mg
1. u. 2. Tag . . .	+ 1020 „	1. u. 2. Tag . . .	+ 757 „

Nimmt man nur 1 Tag, dann kann man keinen Einfluß sehen. Nimmt man 2 Tage zusammen, dann wird eine Mehrausscheidung gefunden. Der Wasser-Stoffwechsel wird in diesen Hungerversuchen nicht beeinflußt.

Außer den Versuchen mit CO_2-Anhäufung ist bei diesem Tier auch noch ein Versuch mit Erhöhung des N-Gehalts der Luft angestellt worden, um den Einfluß der stets mit der CO_2-Anreicherung verbundenen O_2-Verminderung besonders zu prüfen.

Versuch P, bei dem die Einatmungsluft statt 21 % durchschnittlich nur 17,2 % O_2 enthielt, eine Verringerung, die einem CO_2-Gehalt von 17,8 % entspricht, läßt keinen Einfluß auf den Cl-Stoffwechsel erkennen: das Tier ist am Tage vor und nach dem Versuch annähernd im Cl-Gleichgewicht.

Kaninchen IV.

Datum	Bemerkungen	Gewicht g	Aufgenommen ccm	Urin ccm	Chlor-Einnahme mg	Chlor-Ausgabe mg	Chlor-Bilanz mg
			Milch				
17.–18. XI.		3610	287	60	305	432	— 127
18.–19.		3560	156	123	165	?	?
19.–20.		3510	191	130	202	226	— 24
20.–21.		3480	225	180	238	269	— 31

Kaninchen IV (Fortsetzung).

Datum	Bemerkungen	Gewicht g	Aufgenommen ccm	Urin ccm	Chlor-Einnahme mg	Chlor-Ausgabe mg	Chlor-Bilanz mg
21.–22.	Versuch L. 7 Std. bei 13,7 % CO_2. Höchste CO_2-Konzentration 15 %.	3400	181	200	192	281	– 89
22.–23.		3460	302	190	320	315	+ 5
23.–24.		3460	388	290	411	543	– 132
24.–25.		3510	423	320	449	405	+ 44
25.–26.		3510	442	240	469	441	+ 28
26.–27.	Versuch M. 6 Std. bei 13,7 % CO_2. Höchste CO_2-Konzentration 16 %.	3590	330	350	350	369	– 19
27.–28.		3460	329	200	349	456	– 107
28.–29.		3530	307	230	326	396	– 70
29.–30.		3440	272	270	288	403	– 115
30. XI. bis 1. XII.		3530	358	210	380	427	– 47
1.–2. XII.	Hunger	3370	Wasser 40	70	Ø	69	– 69
2.–3.		?	70 (2.–4.)	Ø	Ø	35 (2.–4.)	– 35 (2.–4.)
3.–4.		3330		75	Ø		

Bei Kaninchen IV wird der Chlorumsatz während 17 Tage gemessen. In dieser Periode wurden aufgenommen 4,279 g Cl, abgegeben 4,963 g. Das Tier hatte also eine deutliche negative Chlorbilanz.

Versuch L (13,7 % CO_2).

Vor dem Versuch	Bilanz	Nach dem Versuch	Bilanz
1. Tag	— 31 mg	1. Tag	— 89 mg
1. u. 2. Tag	— 55 „	1. u. 2. Tag	— 84 „

Geringe Chlor-Mehrausscheidung.

Versuch M (13,7 % CO_2).

Vor dem Versuch	Bilanz	Nach dem Versuch	Bilanz
1. Tag	+ 28 mg	1. Tag	— 19 mg
1. u. 2. Tag	+ 72 „	1. u. 2. Tag . . .	— 126 „
1., 2. u. 3. Tag . . .	— 60 „	1., 2. u. 3. Tag . .	— 196 „

Deutliche Chlor-Mehrausscheidung.

Die Wasserausscheidung ist in beiden Fällen unbeeinflußt.

Kaninchen V.

Datum	Bemerkungen	Gewicht g	Aufgenommen ccm	Urin ccm	Chlor-Einnahme mg	Chlor-Ausgabe mg	Chlor-Bilanz mg
			Milch				
17.–18.XI.		3320	426	100	452	482	− 30
18.–19.		3330	301	143	319	?	?
19.–20.		3350	373	230	396	367	+ 29
	Versuch K. 6¾ Std. bei 13,7% CO_2. Höchste CO_2-Konzentration 16%.						
20.–21.		3400	147	∅	156	} 602	− 181
21.–22.		3210	250	170	265		
22.–23.		3190	255	160	271	324	− 53
23.–24.		3190	297	120	315	359	− 44
24.–25.		3235	243	65	256	147	+ 109
25.–26.		3130	242	240	255	392	− 137
26.–27.		3180	303	150	321	272	+ 49
27.–28.		3110	292	270	310	452	− 142
28.–29.		3120	262	100	278	246	+ 32
	Versuch O. 6 Stunden bei 11,6% CO_2. Höchste CO_2-Konzentration 14%.						
29.–30.		3070	88	50	94	237	− 143
30.–1.XII.		3140	175	± 20	186	35	+ 151
1.–2.		3090	231	170	245	215	+ 30
2.–3.		3050	230	150	244	211	+ 33
3.–4.		3080	262	125	278	240	+ 38
4.–5.		3000	259	214	275	?	?
	Hunger		1% Zuckerwasser				
5.–6.		3020	200	∅	∅	∅	∅
6.–7.		2950	230	170	∅	?	?
7.–8.		2930	220	90	∅	21	− 21
8.–9.		2840	500	520	∅	24	− 24
9.–10.		2880	488	303	∅	24	− 24
10.–11.		2730	610	640	∅	50	− 50
	Versuch Q. 6¾ Std. bei 14% CO_2. Höchste CO_2-Konzentration 16,7%.						
11.–12.		2780	418	260	∅	60	− 60
12.–13.		2650	539	530	∅	67	− 67
13.–14.		2590	610	600	∅	83	− 83
14.–15.		2640	608	440	∅	74	− 74
15.–16.		2540	610	580	∅	86	− 86
16.–17.		2520	610	527	∅	50	− 50
17.–18.		2580	220	90	∅	18	− 18
18.–19.		2620	195	90	∅	25	− 25

Das Tier wurde während 27 Tage beobachtet. Davon waren 12 Hungertage. Während der restierenden 15tägigen Milchperiode wurden 4,322 g Chlor aufgenommen und 4,581 g abgegeben. Die Chlorbilanz ist also etwas negativ.

Versuch K (13,7 % CO_2).

Vor dem Versuch	Bilanz	Nach dem Versuch	Bilanz
1. Tag	+ 2 mg	1. Tag	— 181 mg

Man findet hier also eine Mehrausscheidung von Chlor. Wasser wird retiniert.

Versuch O (11,6 % CO_2).

Vor dem Versuch	Bilanz	Nach dem Versuch	Bilanz
1. Tag	+ 32 mg	1. Tag	— 143 mg
1. u. 2. Tag . . .	— 110 „	1. u. 2. Tag . . .	+ 8 „
1., 2. u. 3. Tag . .	— 61 „	1., 2. u. 3. Tag . .	+ 38 „

Vergleicht man nur 1 Tag, so würde man eine Mehrausscheidung finden. Nimmt man 2 oder 3 Tage zusammen, dann hat man aber eine Retention. Wasser wird retiniert.

Beim Hungerversuch Q (14 % CO_2) findet man eine Chlor-Mehrausscheidung.

Vor dem Versuch	Bilanz	Nach dem Versuch	Bilanz
1. Tag	— 50 mg	1. Tag	— 60 mg
1. u. 2. Tag	— 74 „	1. u. 2. Tag . . .	— 127 „
1., 2. u. 3. Tag . . .	— 98 „	1., 2. u. 3. Tag . .	— 210 „

Kaninchen VI.

Datum	Bemerkungen	Gewicht g	Aufgenommen ccm	Urin ccm	Chlor-Einnahme mg	Chlor-Ausgabe mg	Chlor-Bilanz mg
	Hunger.		1 % Zuckerwasser + 0,25 % NaCl				
14.–15. I.		2450	180	81	276	228	+ 48
15.–16.		2370	300	180	459	324	+ 135
16.–17.		2330	323	223	495	529	— 34
17.–18.		2280	199	118	304	341	— 37
18.–19.		2240	75	92	115	224	— 109
19.–20.		2180	151	140	231	246	— 15
	Versuch T. 6 Stunden bei 15,1 % CO_2.						
20.–21.	Höchste CO_2-Konzentration 17,5 %.	2190	135	82	206	97	+ 109
21.–22.		2110	108	158	165	276	— 111
	Versuch V. 6½ Std. bei 24 % CO_2.						
22.–23.	Höchste CO_2-Konzentration 27 %.	2110	118	50	180	91	+ 89
23.–24.		2060	130	90	199	124	+ 75
24.–25.		2050	229	190	350	326	+ 24
25.–26.		2025	300	300	460	513	— 53
26.–27.		1950	310	305	474	575	— 101

Dieses Hungertier ist während der ersten 14 Tage des Hungers im Chlor-Gleichgewicht; es hat 3,914 mg aufgenommen und 3,894 mg abgegeben, also nur 20 mg retiniert.

Ohne die Bilanz genau zu verfolgen, sieht man sogleich, daß die beiden Versuche von einer deutlichen Chlor- und Wasser-Retention gefolgt werden.

Mit dem Wasser wird dann zugleich auch das Chlor ausgeschieden.

Da dieses Tier in der vorigen Arbeit nicht angeführt ist, so folgen hier die ausführlichen Protokolle über die Versuche T und V.

Versuch T.

7 1/2 Stunden im Blechkasten. Ventilation 6,4 ccm Luft pro Minute.

20. I. 1913.

	Gehalt an CO_2 %	Atmung	Bemerkungen	
Nach 50 Min.	< 17,4	Variierte zwischen 60 und 78 und ist vertieft	Atmung sehr regelmäßig. Tier reagiert akustisch sehr gut und benimmt sich ganz normal	Durchschnittsgehalt während 6 Std. 15,1 %. Höchster Gehalt 17,5 %.
In d. folg. Std.	14,0			
do.	16,7			
do.	17,2			
do.	12,5			
do.	17,5			
do.	12,6			

Versuch V.

6 1/4 Stunden im Blechkasten. Ventilation 2,66 ccm Luft.

22. I.

	Gehalt an CO_2 %	Atmung	Bemerkungen	
Nach 18 Min.	< 20	81 tief	Tier schläfriger als in vorig. Versuchen. Immer optische und akustische Reaktion, aber weniger schnell	Durchschnittsgehalt während 6 Std. 24,1 %. Höchster Gehalt 27 %.
„ 1 Std.	23	70 ruhig		
„ 2 „	27	42 ruhig, etwas tief		
„ 3 „	24	54 ruhig		
„ 4 „	24	54 „		
„ 5 „	25	64 „		
„ 6 „	26	76 „		

Untersucht wurde also der Einfluß der CO_2-Einatmung auf den Chlorstoffwechsel bei 6 Tieren. Von diesen Tieren haben zwei während der Untersuchungsperiode Chlor retiniert (I und II), zwei haben eine negative Chlorbilanz (IV und V), zwei waren ungefähr im Chlorgleichgewicht (III und VI).

Wie bereits oben gesagt, findet man beim Kaninchen große Schwankungen in der Chlorausscheidung ohne erkenntliche Ursachen. Um einen etwaigen Einfluß der CO_2-Einatmung auf die Chlorausscheidung zu erkennen, haben wir die Bilanzen vor und nach dem Versuch verglichen. Wenn die beiden Bilanzen positiv waren, aber nach dem Versuch weniger als vor dem Versuch, so nahmen wir an, daß der Versuch einen Einfluß im Sinne einer negativen Bilanz hatte, und umgekehrt.

Wenn man nun die Versuche zusammenstellt, so bekommt man nebenstehende Übersichtstabelle.

Vergleicht man also nur 1 Tag vor und nach dem Versuch, so findet man in 14 Versuchen:

2 mal keinen Einfluß.

7 mal einen Einfluß im Sinne einer Mehrausscheidung.

5 mal einen Einfluß im Sinne einer Chlorretention.

Nimmt man immer 2 Tage zusammen, dann findet man bei 12 Versuchen:

6 mal einen Einfluß im Sinne einer Mehrausscheidung.

6 mal einen Einfluß im Sinne einer Chlorretention.

Faßt man immer 3 Tage zusammen, so zeigt sich bei 8 Versuchen:

1 mal kein Einfluß.

4 mal ein Einfluß im Sinne einer Chlorretention.

3 mal ein Einfluß im Sinne einer Mehrausscheidung.

Man findet also ebenso oft eine Chlorretention als eine Chlor-Mehrausscheidung nach den Versuchen. Die Kohlensäureeinatmung hat also keinen Einfluß auf den Chlorstoffwechsel.

Übersichtstabelle.

Kaninchen	Bemerkungen	Versuch	Gehalt an CO_2 %	Chlorbilanz nach dem Versuch verglichen mit den Bilanzen vor dem Versuch: 1. Tag	1. und 2. Tag	1., 2. und 3. Tag	Wasserretention
I		F	5,9	negativ	negativ	negativ	+
II		D	5,0	positiv	positiv	positiv	∅
		E	6,8	positiv	negativ	positiv	∅
		G	7,0	negativ	positiv	∅	+

Übersichtstabelle (Fortsetzung).

Kaninchen	Bemerkungen	Versuch	Gehalt an CO_2 %	Chlorbilanz nach dem Versuch verglichen mit den Bilanzen vor dem Versuch			Wasser-retention
				1. Tag	1. und 2. Tag	1., 2. und 3. Tag	
III	7. Hungertag	J	12,2	negativ	—	—	∅
		N	13,2	positiv	positiv	positiv	+
	7. „	R	12,8	∅	negativ	—	∅
IV		L	13,7	negativ	negativ	—	∅
		M	13,7	negativ	negativ	negativ	∅
V		K	13,7	negativ	—	—	+
		O	11,6	negativ	positiv	positiv	+
	7. „	Q	14,0	∅	negativ	negativ	+
VI	6. „	T	15,1	positiv	positiv	—	+
	8. „	V	24,0	positiv	positiv	—	+

Der Stickstoffumsatz wird von der CO_2-Einatmung im Sinne einer Mehrausscheidung beeinflußt. Hierfür kommen aber nur CO_2-Konzentrationen von über 10% in Betracht. Wenn man darum auch für den Chlorstoffwechsel nur die Versuche mit CO_2-Konzentration über 12% berücksichtigt, so ändert sich das Resultat nicht: man beobachtet ebenso oft eine Chlor-Mehrausscheidung als eine Retention.

Auch zwischen Chlorretention und Wasserretention besteht kein regelmäßiger Zusammenhang. Es ist hier noch hinzuzufügen, daß die Fälle von Chlorretention, die mit einer Wasserretention verbunden sind, nicht ohne weiteres als eine echte Chlorretention anzusehen sind, und daß umgekehrt in den Fällen von Chlor-Mehrausscheidung und gleichzeitiger Wasserretention, die Mehrausscheidung noch besonders unterstrichen ist.

Nach unsern Versuchen glauben wir schließen zu können, daß die CO_2-Anhäufung im Blut und im Gewebe[1]) beim Kaninchen keine erkennbare Änderung der Cl-Ausscheidung hervorruft.

Die Cl-Verschiebung aus den Körperflüssigkeiten nach den Gewebszellen, die in vitro unter dem Einfluß der Kohlensäure auftritt, ist also in vivo nicht zu finden. Denn wenn eine solche als Folge der CO_2-Einatmung statt hätte, dann müßte

[1]) Siehe hierzu die Ausführung des einen von uns (E. Laqueur, Zeitschr. f. physiol. Chem. **84**, 155).

eine Cl-Verarmung des Serums eintreten und sich dann auch eine Verminderung der Cl-Ausscheidung einstellen. Da nun diese normal bleibt, fehlt jeder Hinweis auf eine Cl-Anreicherung im Gewebe auf Kosten des an Cl verarmten Serums.

Dieser Unterschied zwischen den Resultaten in vitro und in vivo findet eine Erklärung, bzw. läßt sich einordnen unter die Regulationsvorgänge im Körper. Gerade so, wie nach intravenösen Salzeinspritzungen, so werden auch nach intravenösen Säureinjektionen[1]) die etwaigen Störungen durch diese Eingriffe sehr schnell kompensiert.

So werden bekanntlich nach intravenösen Salzeinspritzungen osmotische Druckunterschiede sehr schnell ausgeglichen. Auch nach intravenösen Injektionen von Säuren konnte der eine von uns eine prompte Regulation gerade in dieser uns hier interessierenden Richtung — was die Verschiebung des Chlors anlangt — feststellen.

Es findet sich nämlich nach Injektion verschiedener Säuren in vivo, ebenso wie bei Zusatz von Säuren zu Blut in vitro, eine Abnahme des nichtdiffusiblen Alkaligehalts im Serum, während der Gehalt an diffusiblem Alkali relativ gesteigert wird. Was dagegen das Chlor anlangt, so findet die in vitro nach Säurezusatz zu konstatierende Chlorverarmung des Serums nicht in vivo — 7 Minuten nach der Injektion geprüft — statt. In diesem Falle verhindern also intra vitam vorhandene Faktoren das Eintreten der Chlorverschiebung, bzw. es wird diese von solchen Faktoren außerordentlich schnell beseitigt.

Die Chlorverschiebung, die Hamburger bei dem Pferd nach Säureinjektionen beobachtet hat, steht als Einzelfall da und ist wahrscheinlich als Ausnahme zu betrachten: konnte er selbst doch diese Erscheinung bei einer derartigen Versuchsanordnung bei dem Rinde nicht wahrnehmen.

Aber auch in unserm Fall, wo wir es mit relativ langdauernden Einwirkungen (bis 7stündige CO_2-Anreicherungen) zu tun haben, scheinen die Regulationen noch auszureichen, um die in vitro entstehenden Verschiebungen auszugleichen.

[1]) Snapper, diese Zeitschr. 51, 69.

Einige Untersuchungen über die Inaktivierung des Äthylalkohols als Hämolyticum durch normales Serumalbumin.

Von

Albert Fischer.

(Aus dem „Privat-Laboratorium für Biochemie“ zu Kopenhagen.)

(Eingegangen am 20. Mai 1913.)

Mit 7 Figuren im Text.

Eine Inaktivierung der Hämotoxine durch Cholesterin wurde bekanntlich zuerst von F. Ransom[1]) wahrgenommen. Dadurch, daß man das Serum von den Erythrocyten trennt, wurden diese gegen Hämotoxine empfindlicher, was sich daran zeigte, daß das Saponin in einer Verdünnung von 1 : 200 000 auf serumfreie Erythrocyten einwirkte, während Saponin in einer Verdünnung von 1 : 40 000 keine Hämolyse bewirkte, wenn Serum vorhanden war. Die Erklärung, daß das Serum Giftstoffe sollte binden können, lag gleichzeitig von einer Reihe anderer Verfasser vor. Auch sah Ransom, daß die roten Blutkörper selbst Saponin binden konnten; und bei näherer Untersuchung zeigte es sich, daß auch Stromata diese bindende Fähigkeit besaßen. Durch Äthererextraktion des Serums gewann man einen Extrakt, der die roten Blutkörperchen daran verhindern konnte, daß sie sich beim Zusatz von Saponin auflösten. Ransom führt dann auch ausdrücklich an, daß das Serum, nachdem es einer Extraktion mit Äther-Alkohol unterworfen war, keine bindende Fähigkeit hatte. Es zeigte sich bei der Untersuchung des Ätherextraktes, daß der Hauptbestandteil Cholesterin war. Auch später hat es sich gezeigt, daß Cholesterin die Fähigkeit besitzt, eine Reihe von Hämotoxinen, wie z. B. Solanin, Agaricin, Tetanolysin, Vibriolysin, Kobragiftlecithid, Arachnolysin, Bienengiftlecithid u. a. zu binden.

[1]) F. Ransom, Deutsche med. Wochenschr. 1901.

Nach **Arrhenius**[1]) wird die Fähigkeit des Cholesterins, verschiedene Hämotoxine zu binden, als analog dem Toxin-Antitoxin erklärt. **Abderhalden**[2]), **Hausmann**[3]) und **Le Count** dagegen meinten, daß es von der freien Hydroxylgruppe herrühre; denn Cholesterylester, denen die OH-Gruppe fehlt, wirken nicht bindend. Derselben Ansicht waren **Madsen** und **Noguchi**[4]), indem sie meinten, daß es sich um ein sehr labiles Saponincholesterid handelte. Es gelang **Windaus**[5]), eine solche Verbindung rein chemisch herzustellen, indem er Digitonin benutzte, das ein Saponin ist. Dies Digitonincholesterid faßt er nicht als eine Adsorptionsverbindung, sondern als eine chemische Verbindung der Formel $C_{82}H_{140}O_{29}$ auf. Eine geringe Dissoziation findet jedoch in warmem Methylalkohol statt.

Landsteiner[6]) faßt den Prozeß Hämotoxin-Cholesterin als einen Adsorptionsprozeß auf, bei dem die Faktoren: Lösungsaffinität (physikalische Beschaffenheit der Lipoide) und der chemische Charakter der Stoffe eine Rolle spielen.

v. **Eisler**[7]), der ebenfalls beobachtete, daß die in normalem Serum vorkommende Menge freien Cholesterins eine bedeutende Hemmung der Hämolyse durch Tetanohämotoxin hervorrufen konnte, bemerkte, daß Serumalbumin und Serumglobulin an dieser Hemmung teilnahmen, und fanden, im Gegensatz zu P. Th. **Müller**[8]), daß Serumalbumin, nachdem es mit Alkohol gefällt ist, die Tetanohämotoxinwirkung ebenso stark wie vor der Fällung hemmte.

Erst **Kraus** und **Clairmont**[9]) zeigten, daß normale Sera eine bedeutende antihämolytische Wirkung gegen Bakterienhämolysine hatten. Zur Unterscheidung der Serumproteine von den Lipoiden wandte P. Th. **Müller** folgendes Verfahren an: Zur Fällung der Proteine wurde Alkohol benutzt, der nicht nur die Lipoide in Lösung hielt, sondern auch imstande war, die Proteinstoffe auszuscheiden. Nachdem diese gefällt und in 0,85 % NaCl wieder in Lösung gebracht waren, konnte man die antihämolytische Wirkung derselben prüfen. Das Filtrat wird eingedampft und der Eindampfungsrest wird in Lösung gebracht und die Wirkung geprüft. **Müller** kam dann zu dem Resultat, daß jede hemmende Wirkung bei den Serumproteinen fehlt, daß es sich dagegen aber zeigte, daß das Filtrat vermittels seines Gehaltes an Lipoiden eine

---

1) **Arrhenius** und **Madsen**, Zeitschr. f. physikal. Chem. 44, 1903.
2) **Abderhalden** und **Le Count**, Zeitschr. f. experim. Pathol. u. Therap. 2, 199.
3) **Hausmann**, Beiträge z. chem. Physiol. u. Pathol. 6.
4) **Madsen** und **Noguchi**, Kgl. Videnskabernes Selsk' Ferh. 1904.
5) **Windaus**, Ber. d. Deutsch. chem. Ges. 42.
6) **Landsteiner** und v. **Eisler**, Centralbl. f. Bakt. 39, 1905.
7) v. **Eisler**, Centralbl. für Bakt. 39, 1905.
8) P. Th. **Müller**, Centralbl. f. Bakt. 34, 1903.
9) **Kraus** und **Clairmont**, Wiener klin. Wochenschr. 1901.

hemmende Wirkung auf Tetanolysin hatte. Der Alkoholextrakt aus Eialbumin gab ebenfalls nur eine Hemmung.

v. Eisler fand, daß Globulin ebenso wirksam ist wie das Serum an sich, während Serumalbumin gegen Tetanus- und Staphylokokkenhämolysin unwirksam ist. Auch aus dem unwirksamen Albumin konnte ein wirksames Präparat gewonnen werden, was sich auf die Weise erklären läßt, daß bei Behandlung mit Äther ein Lipoid des Proteins durch Adsorption oder andere Bindung frei wird.

Nach Arrhenius und Madsen hat normales Serum einen stark hemmenden Einfluß auf die hämolytische Wirkung der Basen. Die hemmende Wirkung ist verschieden für verschiedene Sera. Die Inaktivierung von Natriumhydroxyd ist bedeutend stärker als die von Ammoniumhydroxyd. Eialbumin hat eine weit geringere Fähigkeit, die hämotoxischen Eigenschaften der Basen zu binden, was damit zusammenhängt, daß Serumalbumin einen stärkeren Säurecharakter als Eialbumin zu haben scheint, oder daß Serumalbumin mehr Valenzen zur Bindung von Basen als die gleiche Menge Eialbumin hat.

Seife, Ölsäure und Lecithin werden durch Serum stark inaktiviert. Es ist jedoch ein bedeutender Unterschied zwischen der hemmenden Wirkung des Serumalbumins und der des Serumglobulins vorhanden. K. Meyer[1]) hat gezeigt, daß sowohl Albumin als auch Globulin die Seifenhämolyse hemmen, was Liefmann und Cohn[2]) in ihren Untersuchungen völlig bestätigen. Cholesterin hemmt Saponin, nicht Seifen- und Gallensäurehämolyse. Die Hemmungswirkungen beim Serumalbumin und -globulin sind nicht infolge ihrer kolloiden Natur bedingt. Dextrin, Gummi und Gelatine wirken nicht. Ölsäure wird von Albumin, dagegen nicht von Globulin gehemmt; Lecithin wird von Albumin, nicht besonders von Globulin gehemmt. Izar[3]) hat beobachtet, daß normales Blutserum imstande ist, Hämolyse durch Ag-, Hg-Hydrosole und kolloides Ferrihydroxyd, sowie durch Ag-, Hg- und Fe-Salze zu hemmen. Die hemmende Wirkung des Serums ist verschieden für verschiedene Tierarten. Die Verfasser behaupten, daß die hemmende Wirkung ausschließlich von Eiweißkörpern herrühre; Alkohol-, Toluol-, Äther- und Chloroformextrakt zeigten absolut keine hemmende Wirkung.

Glykogen und einige andere Polysaccharide haben, wie man fand, einen hemmenden Einfluß auf die Hämolyse, indem sie nach Wendelstadt[4]) auf das Komplement einwirken und dadurch eine hemmende Wirkung auf den Verlauf der Hämolyse ausüben.

L. v. Liebermann und B. v. Fenyvessy[5]) führen an, daß Bor-

[1]) K. Meyer, diese Zeitschr. 1, 39 u. 81, 1906; Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol. 42, 109, 1899; 46, 338, 1901; 47, 431, 1902; 49, 369, 1903.

[2]) Liefmann und Cohn, diese Zeitschr. 26, 85, 1910.

[3]) Izar, Zeitschr. f. Immunitätsforsch. 2, 482, 1902.

[4]) Wendelstadt, Centralbl. f. Bakt. I. Abt. 34, 831. 1903.

[5]) L. v. Liebermann und B. v. Fenyvessy, Zeitschr. f. Immunitätsforsch. Orig. 2, 436, 1909.

säure in einer Menge, die nicht selbst hämolytisch wirkt, eine Seifen-Albuminmischung aktiviere. Nach dem Verfasser handelt es sich um eine Vereinigung beider Agenzien, nicht um eine Summation ihrer Wirkungen; es ist wirklich eine Aktivierung, was in Übereinstimmung damit steht, daß inaktiviertes Immunserum und komplementhaltiges Serum zusammengebracht war. Ebenfalls können Seifenlösungen, die von Kalksalzen inaktiviert sind, von Borsäure reaktiviert werden. Diese Reaktivierung kann auch bei Oxalaten und Phosphaten vor sich gehen. Auch Seifenlösungen, die durch Cholesterin inaktiviert sind, werden durch Borsäure reaktiviert.

Es ist hier beabsichtigt, den Prozeß der Inaktivierung des Hämotoxins von einem physikalisch-chemischen Standpunkt aus, nämlich nach den Gesetzen der Adsorption, zu betrachten. Außer einer Anzahl von Versuchen, die die Inaktivierung von Äthylalkohol mit normalem Serum betreffen, habe ich gleichzeitig eine Reihe vnn Untersuchungen über die Adsorption von Säuren und Basen mit Serumalbumin als Adsorbens vorgenommen. Es ist selbstverständlich sehr schwierig, bei der Ausführung von Versuchen, wo man Stoffe zu behandeln hat, die an Bau und Wirkungsart so kompliziert, wie es z. B. die roten Blutkörperchen sind, alle Verhältnisse zu berücksichtigen. Man kann deswegen auch nicht umhin, Versuchsfehler und Ungenauigkeiten zu bekommen, die daher rühren, daß nur so wenig nötig ist, um den Gang des Prozesses zu beeinflussen. Anders ist es, wenn man von den roten Blutkörperchen als Maßstab für die Adsorption absehen kann und sich anstatt dessen der einfacheren Titrierungsmethode bedient.

Bei den Untersuchungen sind Pferdeblutkörper zur Anwendung gekommen, die vermittels Zentrifugierens 4 mal mit 0,85 $^0/_0$iger NaCl-Lösung gewaschen und endlich bis zum ursprünglichen Volumen aufgefüllt sind. Von dieser Aufschlemmung hat man jedem Glas 1,0 ccm zugesetzt. Das gewählte Hämolyticum, das in allen Versuchen angewandt ist, war Äthylalkohol (Petri 100 $^0/_0$), der bekanntlich bei ca. 14,90 Gewichtprozent totale Hämolyse bewirkt. Für die Versuche habe ich jedoch eine Konzentration angewandt, die etwas höher war, um eine sichere und deutliche Hämolyse nach verhältnismäßig kurzer Zeit zu bekommen. Das gesamte Volumen betrug, bei einzelnen Ausnahmen, immer 10,80 ccm und wurde in hohe schmale Reagensgläser gebracht, um dadurch den

zu Boden sinkenden Erythrocyten eine größere Flüssigkeitsmenge zum Durchlaufen zu geben. Die roten Blutkörperchen wurden immer zuletzt zugesetzt, alsdann wurden alle Gläser 5 Minuten lang bei Zimmertemperatur und im Anschluß hieran 12 Stunden im Eisschrank gehalten. Die Beurteilung der Hämolyse ist, soweit die Versuche keine Adsorptionsuntersuchung bezweckten, nur grob vorgenommen, so daß — keine Hämolyse, + Spur von Hämolyse, ++ fast völlige Hämolyse und +++ totale Hämolyse bedeuten. Die Beurteilung der quantitativen Hämolyseversuche geschah nach dem von Madsen angegebenen colorimetrischen Maßstab, so daß eine Skala aus Glas mit verschiedenen Prozentmengen Hämoglobin gebildet wurde. Das Serum, welches zur Inaktivierung verwandt wurde, war Pferdeserum, das man dadurch gewann, daß man entweder das Blut koagulieren ließ und das obenstehende Serum abpipettierte, oder auch dadurch, daß im voraus dem Blute 0,1 °/₀ Fluornatrium zugesetzt und das Serum dann durch Zentrifugieren gewonnen war. Das Serum, das nach der ersten Methode gewonnen war, erwähne ich in den Tabellen als Koagulationsserum und das letztere als Fluornatriumserum.

Tabelle I zeigt z. B. einen Versuch, wo das Koagulationsserum Äthylalkohol inaktiviert. Erst in Glas Nr. 3 bekommen wir Hemmung, die bis Nr. 7 andauert, wo man eine im Anfang begriffene Hämolyse wahrnehmen kann, alsdann nimmt sie in Nr. 8 und 9 zu, was darauf deuten kann, daß die Serumkonzentration so hoch ist, daß die vorhandenen Lipoide dennoch Hämolyse bewirken.

Tabelle I.

Nr.	Physiol. NaCl ccm	Erythrocyten ccm	Serum (koag.) ccm	Äthylalkohol ccm	Gesamt-Volumen	Hämolyse
1	8,0	1,0	0,0	1,80	10,80	+++
2	7,0	1,0	1,0	1,80	10,80	+
3	6,0	1,0	2,0	1,80	10,80	—
4	5,0	1,0	3,0	1,80	10,80	—
5	4,0	1,0	4,0	1,80	10,80	—
6	3,0	1,0	5,0	1,80	10,80	—
7	2,0	1,0	6,0	1,80	10,80	+
8	1,0	1,0	7,0	1,80	10,80	++
9	0,0	1,0	8,0	1,80	10,80	++

In Tabelle II haben wir gleichfalls eine im Anfang begriffene Hemmung in dem Glase (Nr. 4), wo die Konzentration des Serums 2,0 ccm ist.

Tabelle II.

Nr.	Physiol. NaCl ccm	Erythrocyten ccm	Serum (koag.) ccm	Äthylalkohol ccm	Gesamt-Volumen	Hämolyse
1	8,0	1,0	0,0	1,80	10,80	+++
2	7,5	1,0	0,5	1,80	10,80	++
3	7,0	1,0	1,0	1,80	10,80	+
4	6,0	1,0	2,0	1,80	10,80	—

Tabelle III zeigt schon bei Konzentration des Serums von 1,0 ccm Hemmung der Hämolyse. Dasselbe zeigt Tabelle IV.

Tabelle III.

Nr.	Physiol. NaCl ccm	Erythrocyten ccm	Serum (Fluor.) ccm	Äthylalkohol ccm	Gesamt-Volumen	Hämolyse
1	8,0	1,0	0,0	1,80	10,80	+++
2	7,5	1,0	0,5	1,80	10,80	++
3	7,0	1,0	1,0	1,80	10,80	—
4	6,0	1,0	2,0	1,80	10,80	—
5	5,0	1,0	3,0	1,80	10,80	—

Tabelle IV.

Nr.	Physiol. NaCl ccm	Erythrocyten ccm	Serum (Fluor.) ccm	Äthylalkohol ccm	Gesamt-Volumen	Hämolyse
1	8,0	1,0	0,0	1,80	10,80	+++
2	7,5	1,0	0,5	1,80	10,80	++
3	7,0	1,0	1,0	1,80	10,80	—
4	6,0	1,0	2,0	1,80	10,80	—
5	7,8	1,0	2,0	0,00	10,80	—

Man sieht hieraus, daß das Koagulationsserum eine geringere Fähigkeit, die Wirkung des Äthylalkohols zu hemmen, zu haben scheint, als es mit Fluornatriumserum der Fall ist.

In einigen Versuchen ist die Inaktivierung des Äthylalkohols vorgenommen worden, bevor er auf die resp. Gläser verteilt wurde. So z. B. Tabelle V, wo die Konzentration dieselbe ist

wie in Tabelle IV Nr. 4. Das aktive Toxin ist die gewöhnliche Alkoholkonzentration. In Tabelle VI ist der Alkohol inaktiviert von 2,5 % Serumalbumin (Merck, puriss.), in 0,85 % NaCl-Lösung gelöst.

Tabelle V.

Nr.	Aktiv. Äthyl-alkohol ccm	Erythro-cyten ccm	Hämolyse	Inaktiv. Äthyl-alhohol ccm	Erythro-cyten ccm	Hämolyse
1	6,0	1,0	+++	6,0	1,0	—
2	6,0	1,0	+++	6,0	1,0	—

Tabelle VI.

Nr.	Aktiv. Äthyl-alkohol ccm	Erythro-cyten ccm	Hämolyse	Inaktiv. Äthyl-alkohol ccm	Erythro-cyten ccm	Hämolyse
1	8,0	1,0	+++	8,0	1,0	—
2	8,0	1,0	+++	8,0	1,0	—

Physikalisch-chemische Untersuchungen mit Lecithin und Cholesterin hat W. Koch[1]) vorgenommen und kommt zu folgenden Resultaten: Säuren fällen und Alkalien lösen die Suspension. Die Salze der Alkalimetalle wirken in keiner Konzentration fällend. Salze divalenter Metalle geben Niederschlag. Salze trivalenter Metalle verändern die Suspension nicht. Nichtelektrolyte und Kolloide haben keinen Einfluß. Monovalente und trivalente Kationen konnten die Fällung divalenter Metalle hemmen. Nach Porges und Neubauer[2]) hebt Eiweiß in starker Konzentration die Fähigkeit, sich von Salzen fällen zu lassen, bei Lecithin und Cholesterin auf.

Landsteiner und Uhlirz[3]) haben eine Reihe von Untersuchungen über Adsorption von Eiweißkörpern ausgeführt, weil sich in manchen Punkten eine Übereinstimmung zwischen der Reaktion der Immunkörper und den Adsorptionserscheinungen findet. Aus den Untersuchungen geht hervor, daß sich die verschiedenen Proteinstoffe des Serums adsorbieren lassen, und weiter, daß sie sich mit Neutralsalzen am besten fällen lassen. Euglobulin läßt sich besser adsorbieren als Pseudoglobulin, und Albumin weniger gut, was im Verhältnis dazu steht, daß die wirksamen Stoffe durch die Immunkörperreaktion in den meisten Fällen mit den Globulinen aussalzbar sind.

[1]) W. Koch, Zeitschr. f. physiol. Chem. **37**, 181, 1903.
[2]) Porges und Neubauer, diese Zeitschr. **7**, 152, 1907.
[3]) Landsteiner und Uhlirz, Centralbl. f. Bakt. I. Abt. **40**, 1906.

Reine Adsorptionsprozesse gehen, wenn die Temperatur konstant gehalten wird, nach **Freundlich** nach folgender Gleichung:

$$\text{I.}\quad \frac{x}{m} = \alpha \cdot c^{\frac{1}{n}} \quad \text{(die Adsorptionsisotherm),}$$

wo $\frac{x}{m}$ die pro Gramm Adsorbens adsorbierte Menge, c die Schlußkonzentration ist, während α und $\frac{1}{n}$ Konstanten sind (die sogenannten Adsorptionskonstanten), abhängig von den Stoffen, mit welchen man arbeitet, und von den äußeren Verhältnissen, unter denen die Adsorption stattfindet. Wird der Logarithmus auf beiden Seiten der Gleichung genommen, bekommt man:

$$\text{II.}\quad \log\frac{x}{m} = \log\alpha + \frac{1}{n}\log c,$$

das, wie man sieht, die Gleichung einer geraden Linie ist. Man besitzt hierin ein Mittel, zu untersuchen, inwiefern sich vorliegende Observationen in eine Adsorptionsisotherme bringen lassen oder nicht. Außerdem lassen sich aus II. die Adsorptionskonstanten bestimmen, indem $\log\alpha$ das Stück ist, das die gerade Linie von der Ordinatenachse abschneidet, während $\frac{1}{n}$ der Richtungskoeffizient der Linie ist.

Wenn man untersucht, wie sich Serumalbumin in konstanter Menge Basen und Säuren gegenüber in variierender Menge verhält, zeigt es sich, daß diese stark adsorbiert werden. Es zeigt sich auch, wenn wir in die Gleichung einführen, daß der Prozeß sehr genau nach einer Adsorptionsisotherme vor sich geht. Einige Versuche werden dies illustrieren. In allen Gläsern waren konstant 40 ccm 5%iges Serumalbumin, d. h. 0,2 g Adsorbens; hinzugesetzt wurden Wasser und bzw. Säure und Base in variierender Menge, so daß das gesamte Volumen 80 ccm betrug. Die Säure und Base wurde mit einer Genauigkeit von $^1/_{100}$ ccm aus einer Bürette hinzugefügt, und die Normalität war nahezu $^1/_{10}$ n. Das Adsorbendum (Säure oder

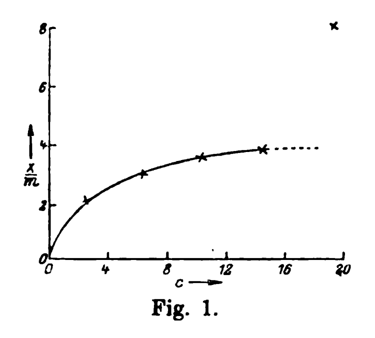


Fig. 1.

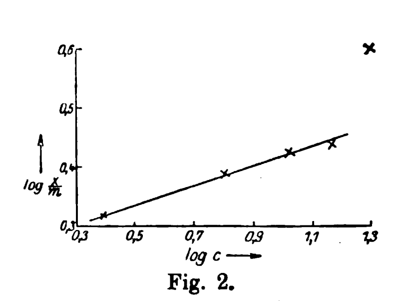


Fig. 2.

Base) wurde zuletzt zugesetzt und alle Gläser wurden bei konstanter niedriger Temperatur im Thermostat untergebracht. Nach Verlauf eines halben oder ganzen Tages wurden sie mit $^n/_{10}$-Säure oder Base titriert.

Tabelle VII.

Nr.	5% Albumin ccm	$^n/_{10}$-NaOH ccm	H_2O ccm	Gesamt-Volumen	Abpipettiert ccm	$^n/_{10}$-H_2SO_4 ccm	$\frac{x}{m}$	c	$\log \frac{x}{m}$	$\log c$
1	40	5	35	80	15	0,46	2,14	2,45	0,3304	0,3892
2	40	10	30	80	15	1,17	2,93	6,24	0,4669	0,7952
3	40	15	25	80	15	1,93	3,47	10,29	0,5403	1,0124
4	40	20	20	80	15	2,74	3,74	14,60	0,5729	1,1644
5	40	30	10	80	15	3,68	7,90	19,61	0,8976	1,2925

(10 ccm NaOH ∾ 9,17 ccm H_2SO_4).

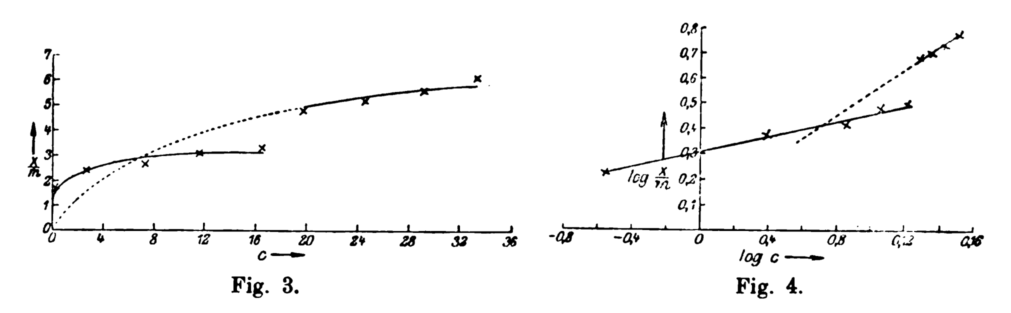


Fig. 3. Fig. 4.

Tabelle VIII.

Nr.	5% Albumin ccm	$^n/_{10}$-NaOH ccm	H_2O ccm	Gesamt-Volumen	Abpipettiert ccm	$^n/_{10}$-H_2SO_4 ccm	$\frac{x}{m}$	c	$\log \frac{x}{m}$	$\log c$
1	40	1	39	80	15	0,30[1]	—	—	—	—
2	40	2	38	80	15	0,05	1,72	0,27	0,2355	0,5686
3	40	5	35	80	15	0,48	2,42	2,56	0,3838	0,4082
4	40	10	30	80	15	1,37	2,65	7,30	0,4232	0,8633
5	40	15	25	80	15	2,23	3,04	11,89	0,4829	1,0752
6	40	20	20	80	15	3,13	3,22	16,68	0,5079	1,2222
7	40	25	15	80	15	3,75	4,89	19,99	0,6893	1,3008
8	40	30	10	80	15	4,64	5,12	24,73	0,7093	1,3932
9	40	35	5	80	15	5,49	5,57	29,26	0,7459	1,4663
10	40	40	0	80	15	6,33	6,06	33,74	0,7825	1,5281

(10 ccm NaOH ∾ 9,95 ccm H_2SO_4).

[1]) Bedeutet Base.

Nr. 5 in Tabelle VII weicht ziemlich von den andern ab; aus Tabelle VIII und noch besser aus Fig. 3 und 4 aber ersehen wir, daß ein entsprechender Sprung um Nr. 7 entsteht, der sich vielleicht auf die Weise erklären ließe, daß einige der Lipoide, die das Albumin umgeben, durch die betreffende Basenkonzentration verseift werden und dadurch die Bindung neuer Mengen NaOH ermöglichen. Es zeigt sich auch, daß sich der Prozeß nach einer echten Adsorptionsisotherme fortsetzt.

Tabelle IX (Fig. 5).

Nr.	5% Albumin ccm	n/10-H_2SO_4 ccm	H_2O ccm	Gesamt-Volumen	Abpip. ccm	n/10-NaOH ccm	$\frac{x}{m}$	c
1	40	5	35	80	15	1,06	— 0,66	5,65
2	40	10	30	80	15	2,22	— 1,86	11,83
3	40	15	25	80	15	3,04	— 1,24	16,20
4	40	25	15	80	15	4,98	— 1,61	26,54

In Tabelle IX ist H_2SO_4 das absorbierte Medium, und es zeigt sich, daß wir hier eine negative Adsorptionsisotherme bekommen (Fig. 5), deren Existenz erst endgültig von K. Estrup[1]) nachgewiesen ist. Da sie negativ ist, bedeutet dies, daß die Wasseradsorption größer ist als die Elektrolytadsorption.

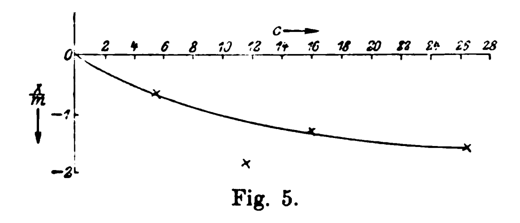


Fig. 5.

Schließlich will ich einige Versuche erwähnen, von denen der eine hier angeführt sei, weil er zeigen soll, daß die Inaktivierung von Äthylalkohol mit Serumalbumin nach einer Adsorptionsisotherme verläuft. Wie gesagt, ist es sehr schwierig, Versuchsfehler zu vermeiden, und diese machen sich auch hier stark geltend.

---

[1]) K. Estrup und E. Buch Andersen, Det kgl. Danske Videnske. Selsk' Forhandl. 1912, Nr. 4.

Tabelle X.

Nr.	5%' Albumin ccm	0,85% NaCl ccm	Erythrocyten ccm	Äthylalkohol ccm	Gesamt-Volumen	Hämolyse	c	x	$\frac{x}{m}$
1	0,0	8,00	1,00	1,80	10,80	1,00	1,80	0,00	—
2	0,1	7,90	1,00	1,80	10,80	0,80	1,44	0,36	3,60
3	0,2	7,80	1,00	1,80	10,80	0,40	0,72	1,08	5,40
4	0,3	7,70	1,00	1,80	10,80	0,30	0,54	1,26	4,20
5	0,4	7,60	1,00	1,80	10,80	0,20	0,36	1,44	3,60
6	0,5	7,50	1,00	1,80	10,80	0,10	0,18	1,62	3,24
7	0,7	7,30	1,00	1,80	10,80	0,05	0,09	1,71	2,44
8	1,0	7,00	1,00	1,80	10,80	0,05	0,09	1,71	1,71
9	1,5	6,50	1,00	1,80	10,80	0,05	0,09	1,71	1,14
10	2,0	6,00	1,00	1,80	10,80	0,10	0,18	1,62	0,81
11	3,0	5,00	1,00	1,80	10,80	0,00	0,00	1,80	0,60
12	4,0	4,00	1,00	1,80	10,80	0,00	0,00	1,80	0,45
13	4,0	4,00	1,00	0,00	9,00	0,00	0,00	1,80	0,45

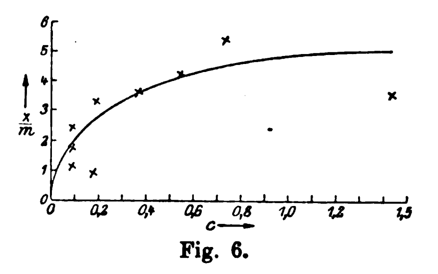


Fig. 6.

R. Volk hat Untersuchungen über die Bindungsverhältnisse des Staphylolysins zu den roten Blutkörpern gemacht; beim Aufstellen der Resultate kommt der Verfasser zu einer Kurve, die nach einer Adsorptionsisotherme zu verlaufen scheint. Ich habe den Versuch hier herangezogen, weil er das Behandelte ebenfalls gut illustriert.

Tabelle XI (Volks eigener Versuch).

Zugegebene Lysinmenge ccm	Zugegebene Lysinmenge in Einheiten	Zurückgebliebene Lysinmenge in Einheiten	Absorbierte Lysinmenge in Einheiten	Absorbierte Lysinmenge %
0,2	20	5	15	75
0,4	40	83	31,7	79
0,8	80	25	55	69
1,0	100	ca. 40	ca. 60	60
1,6	160	83,3	76,7	48

Tabelle XII.

Nr.	Adsorbiert	Zurückgeblieben	$\log \frac{x}{m}$	$\log c$
1	15,0	5,0	1,18	0,70
2	31,7	8,3	1,50	0,92
3	55,0	2,5	1,74	1,40
4	60,0	40,0	1,78	1,60
5	76,7	83,3	1,88	1,92

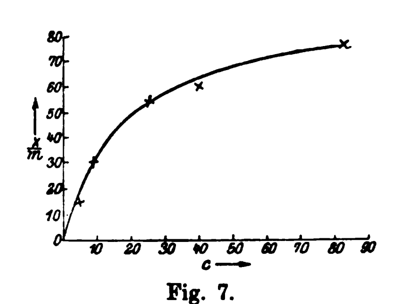


Fig. 7.

Volks Versuch in die Adsorptionsisotherme eingeführt.

Der Verfasser führt auch an, daß die absorbierte Lysinmenge für sich einem Gesetze folge, das sich vorläufig (1903) nicht aufstellen lasse. Volk formuliert das Adsorptionsgesetz für Staphylolysin folgendermaßen: „Bei gleichbleibender Menge der bindenden Substanz wächst die absolute Absorptionsgröße mit der zugegebenen Lysinmenge, während die relative fällt, ein Verhalten, das in bester Übereinstimmung mit den Bindungsgesetzen der Immunkörper an die entsprechenden Receptoren steht."

Der Verfasser hebt allerdings hervor, daß das den roten Blutkörperchen anhaftende Serum gar keine Rolle für die Bindung spiele, da gewaschene und ungewaschene Blutkörperchen dieselben Absorptionswerte ergaben. Ein ähnliches Verhältnis wurde von Eisenberg[1]) bei der Bindung von Agglutinin an Typhus- und Cholerakulturen beobachtet, das auch bei Präcipitationsvorgängen von Eiereiweiß durch Immunserum galt. Es stellte sich ein Gleichgewicht ein, das dadurch gestört werden konnte, daß man von einer der Komponenten etwas zusetzte, durch die die Reaktion in irgendeiner Richtung zustande kam. Volk und Eisenberg[2]) führen schließlich an, daß das Massenwirkungsgesetz das Verständnis der Bindungsverhältnisse ermöglicht.

---

[1]) Ph. Eisenberg, Centralbl. f. Bakt., I. Abt. **31**, 1902.

[2]) Ph. Eisenberg und R. Volk, Zeitschr. f. Hygiene **40**, 1902.

Wenn wir die Resultate in aller Kürze wiederholen, können wir sagen:

1. Normales Serum hemmt die Hämolyse des Äthylalkohols; Fluornatriumserum mehr als Koagulationsserum.

2. Serumalbumin hemmt die hämolytische Wirkung des Äthylalkohols; der Prozeß ist ein Adsorptionsprozeß.

3. Basen werden stark von Serumalbumin adsorbiert.

4. Säuren geben negative Adsorption mit Serumalbumin als Adsorbens.

Für die Liebenswürdigkeit, mit der mir Herr E. Buch Andersen seine Erfahrungen auf dem Gebiete der Adsorption jederzeit zur Verfügung stellte, sage ich auch hier meinen besten Dank.

Über den Alkoholgehalt der Milch nach Zufuhr wechselnder Alkoholmengen und unter dem Einfluß der Gewöhnung.

Von

Wilhelm Völtz und Johannes Paechtner.

(Aus der ernährungsphysiologischen Abteilung des Instituts für Gärungsgewerbe der Königl. Landwirtschaftlichen Hochschule Berlin.)

(Eingegangen am 17. Mai 1913.)

Die Ansicht, daß erhebliche Mengen Alkohol in die Milch übergehen, die den Säugling ev. berauschen, oder auf denselben sogar bedenklich toxisch wirken können, ist früher vielfach ausgesprochen worden.

So berichtet Demme[1]), daß ein Kind, das von einer Säuferin gestillt wurde, die 200 bis 250 g Branntwein trank, an heftigen Konvulsionen litt, die ausblieben, nachdem das Kind andere Milch als Nahrung erhielt. Baginsky[2]) war sogar der Ansicht, daß selbst das alkoholarme Ammenbier, das doch unter 1 % Alkohol enthält, den Säugling empfindlich schädigen könne. Über den Alkoholgehalt der Milch macht Demme ganz ungenügende, Baginsky gar keine Angaben. Weller[3]) untersuchte die Milch einer größeren Anzahl Kühe aus einer bedeutenden Brennereiwirtschaft, die erhebliche Mengen Schlempe erhielten. Die Schlempe soll 5,9 Gewichtsprozent, die Milch 0,96 Gewichtsprozent Alkohol enthalten haben. Mit Recht hebt Rosemann[4]) hervor, daß die Schlempe normalerweise völlig alkoholfrei sein müsse, und daß man bei Vorhandensein von 0,1 bis 0,2 % Alkohol in der Schlempe bereits von einem mangel-

---

[1]) R. Demme, Über den Einfluß des Alkohols auf den Organismus des Kindes. Stuttgart 1891.

[2]) Baginsky, Eulenburgs Real-Enzyklopädie der gesamten Heilkunde, III. Aufl., 1, 94. Artikel Amme.

[3]) H. Weller, Über das Vorkommen von Alkohol in der Milch. Forschungsberichte über Lebensmittel und ihre Beziehung zur Hygiene 4, 206.

[4]) R. Rosemann, Über den Einfluß des Alkohols auf die Milchabsonderung. Arch. f. d. ges. Physiol. 78, 502, 1899.

haften Betriebe sprechen könne. „Ein Gehalt von 5,9 % Alkohol, wie ihn Weller gefunden hätte, wäre etwas ganz Unbegreifliches, da keine Fabrik bei einigermaßen rationellem Betriebe eine solche Schlempe als Viehfutter verwenden würde.“ Mit Rosemann halten wir die Sachlage bezüglich der Wellerschen Untersuchung für so wenig geklärt, daß auf eine Verwertung seiner Resultate verzichtet werden muß. Klingemann[1]) studierte den Übergang des Alkohols in die Milch an einer Ziege und an zwei stillenden Frauen. Die Alkoholbestimmung erfolgte mittels Pyknometers (spezifisches Gewicht) und zur Kontrolle mittels Geißlerschen Vaporimeters (Dampftension). Klingemann überzeugte sich zunächst davon, daß die Milchdestillate dasselbe spezifische Gewicht und dieselbe Dampftension haben wie destilliertes Wasser, und daß dieselben übrigens auch Chromsäure nicht reduzieren. Die Jodoformreaktion fand er zum Nachweis von Spuren an Alkohol in Milchdestillaten für ungeeignet.

An der Ziege führte Klingemann insgesamt 5 Versuche durch. Die Tiere erhielten steigende Mengen Alkohol, und zwar im Versuch:

Nr. 1 . . .	25 ccm	Alkohol	mit	25 ccm	Wasser
„ 2 . . .	50 „	„	„	200 „	„
„ 3 . . .	100 „	„	„	150 „	„
„ 4 . . .	115 „	„	„	135 „	„
„ 5 . . .	200 „	„	„	300 „	„

Beim 3., 4. und 5. Versuch konstatierte Klingemann eine starke Intoxikation. Bei den beiden Versuchen mit 25 und mit 50 ccm Alkohol konnte ein Übergehen desselben in die Milch nicht nachgewiesen werden. Bei dem 3. Versuch mit einer Dosis von 100 ccm Alkohol fand Klingemann 0,2 bis 0,3 % der Zufuhr in der Milch wieder. Beim 4. Versuch wurden von 115 ccm aufgenommenen Alkohols 0,087 bis 0,13 % wiedergefunden. Im letzten Versuch schließlich sezernierte die Ziege nach einer Gabe von 200 ccm Alkohol 0,5 ccm, entsprechend 0,25 % Alkohol, durch die Milchdrüse.

Versuche an Frauen.

(Klingemann.)

Versuch 1.

Eine Wöchnerin erhielt $^3/_8$ l Schaumwein (Kupferberg Gold) mit 12 Volumenprozent, entsprechend 45 ccm Alkohol. Insgesamt wurden in 4 Fraktionen ($2^1/_2$ bis 21 Stunden nach dem Schaumweingenuß) 530 ccm Milch gewonnen, die sich sämtlich als alkoholfrei erwiesen.

Versuch 2.

Dieselbe Wöchnerin erhielt 5 Tage später $^3/_8$ l desselben Schaumweins. In 6 Fraktionen (3 bis 25 Stunden nach dem Alkoholgenuß) wurden 965 ccm Milch gewonnen, die ebenfalls sämtlich keinen Alkohol enthielten.

---

[1]) F. Klingemann, Der Übergang des Alkohols in die Milch. Virchows Archiv 126, 72 bis 80, 1891.

Versuch 3.

Eine zweite Wöchnerin erhielt 320 ccm eines 18%igen Portweins mit 57 bis 58 ccm Alkohol. In der Milch von 4 Fraktionen (6 bis 20 Stunden nach der Aufnahme), insgesamt 455 ccm, konnte ebenfalls kein Alkohol gefunden werden.

Klingemann gelangt zu dem Schluß, daß bei der Ziege nach Verabreichung bis zu 50 ccm Alkohol in einer Dosis überhaupt kein Alkohol in die Milch überginge, und daß erst bei sehr großen Quantitäten Alkohol in der Milch ca. 0,25% der Zufuhr zur Ausscheidung gelangten. Bei Berücksichtigung der Versuchsfehler könnten die unter diesen Bedingungen gefundenen Alkoholmengen in maximo 0,5% der Zufuhr betragen. Beim Menschen gehen nach Klingemann von 46 bis 57 ccm Alkohol in einer Dosis überhaupt keine wahrnehmbaren Alkoholmengen in die Milch über, und nur nach stärkeren Alkoholgaben dürften geringe Quantitäten in der Milch nachweisbar sein, die jedoch so minimal wären, daß der Säugling durch den Alkohol nicht geschädigt werden könne. Diesen Schlußfolgerungen Klingemanns ist durchaus beizupflichten, wenn schon seine negativen Alkoholbefunde bei der Analyse der Frauenmilch infolge einer unzureichenden Methode nicht absolut zutreffend sein dürften. Auf Grund der Untersuchungen von Nicloux, sowie unserer Versuche, wissen wir heute genau, daß 0,1 bis 0,2% des aufgenommenen Alkohols oder weniger durch die Milchdrüse ausgeschieden werden.

Baumm und Illner[1]) fanden bei 4tägiger Verabreichung von täglich $1^1/_2$ l Bier an Menschen weder hinsichtlich der Zusammensetzung der Milch Abweichungen im Vergleich zu normaler Milch, noch konnten sie Alkohol in der Milch nachweisen; der Säugling gedieh sehr gut.

Rosemann (l. c.) experimentierte an 2 Kühen, teils um die Veränderungen hinsichtlich der chemischen Zusammensetzung der Milch nach Alkoholzufuhr zu studieren, teils um die in die Milch übergehenden Alkoholmengen zu bestimmen. Die Tiere erhielten pro Kopf und Tag ca. 7 kg Kleeheu und 2 kg Weizenschalen neben Wasser ad libitum. Die Bestimmung des Alkohols erfolgte mittels Pyknometers. Rosemann verabreichte pro Kopf von 300 bis zu 600 ccm steigende Quantitäten Alkohol. Bei Gaben von 600 ccm Alkohol war die Kuh deutlich betrunken, und die Nahrungsaufnahme war herabgesetzt. Rosemann fand nach Zufuhr kleinerer Mengen Alkohol gar keinen Alkohol in der Milch wieder, dagegen nach Verabreichung von 500 ccm bis zu 600 ccm nachweisbare Mengen, die jedoch nur gering waren und nicht über 0,15 bis 0,3% der Zufuhr betrugen. Unter Berücksichtigung der Ungenauigkeit der Bestimmung so kleiner Alkoholmengen mit Hilfe des spezifischen Gewichtes wässeriger alkoholischer Lösungen, dürfte die betreffende Quantität nach Rosemann in maximo 0,2 bis 0,6% der genossenen Menge betragen.

---

[1]) P. Baumm und R. Illner, Die Frauenmilch, deren Veränderlichkeit und Einfluß auf die Säuglingsernährung. Volkmanns klin. Vorträge, Nr. 105, 1894.

Die Resultate Rosemanns stehen also mit denjenigen von Klingemann in vollem Einklang.

Auf Grund seiner Versuche über den Einfluß von Alkoholgaben auf die chemische Zusammensetzung der Milch kommt Rosemann zu dem Schluß, daß eine diesbezügliche Beeinflussung nicht vorhanden sei; da jedoch die Nährstoffzufuhr in Rosemanns Versuchen keine quantitative war, lassen sich nach unserem Dafürhalten aus seinen Ergebnissen diesbezügliche Folgerungen mit Sicherheit nicht ziehen.

Aus der Arbeit K. Teicherts[1]), der zum Nachweis des Alkohols in der Milch lediglich die Jodoformreaktion benutzte, ist gar nichts für die vorliegende Frage zu schließen. Schon Klingemann (l. c.) hat darauf hingewiesen, daß diese Reaktion zum Nachweis von Äthylalkohol in Milchdestillaten ungeeignet wäre. Zudem handelte es sich bei der Teichertschen Untersuchung um Milch in stark zersetztem, in Gärung befindlichem Zustande, so daß, wie der Verfasser angibt, die Feststellung ihrer Zusammensetzung nicht mit Genauigkeit erfolgen konnte. Die Milch war von Kühen einer Brennereiwirtschaft gewonnen, die verdorbene Schlempe erhalten hatten. Nach dem Genuß der Milch gingen eine Anzahl Kälber und Lämmer zugrunde. Über die Dauer der Aufbewahrung bzw. über den Zusatz von Konservierungsmitteln bis zu ihrer Analyse durch Teichert, werden keine Angaben gemacht. Daß im vorliegenden Falle, wenn nicht überhaupt anderweitige Ursachen (Infektion) vorgelegen haben, die verdorbene Schlempe, die vor ihrer Verfütterung längere Zeit in einem unterirdischen 150 m langen Kanal stagniert hatte, für den Tod der Kälber und Lämmer verantwortlich zu machen ist und nicht etwa der möglicherweise in der Milch enthaltene Alkohol, bedarf keiner Erörterung. Der Versuch, auf Grund eines so spärlichen und unsicheren Materials und einer so mangelhaften Methode Schlüsse über die Ausscheidung von Alkohol zu ziehen und daraus noch einen sog. interessanten Fall zu konstruieren, wie es in der Arbeit von Teichert geschehen ist, muß vom Standpunkte exakter Wissenschaft aus als unzulässig bezeichnet werden.

Die erste, durch eine zuverlässige Methode gesicherte Bearbeitung dieser Frage stammt von Maurice Nicloux[2]). Dieser Forscher hat in einer Anzahl experimenteller Arbeiten das Vorhandensein und die Ausscheidung des an Versuchsindividuen verabreichten Alkohols in den ver-

[1]) K. Teichert, Ein interessanter Fall des Vorkommens von Alkohol in der Milch. Milchzeitung **1901**, S. 148 bis 149.

[2]) M. Nicloux, Recherches experimentales sur l'élimination de l'alcool dans l'organisme. Paris, 1900, Octave Doin, éd., Place de l'Odéon; idem, Sur le passage de l'alcool ingéré dans le lait chez la femme. Compt. rend. Soc. Biol. II. Serie, **1**, 980; idem, Dosage comparatif de l'alcool dans le sang et dans le lait. Compt rend. de l'Acad. d. Sc. **130**, 855; Compt. rend. Soc. Biol. **50**, 295; Bulletin du Muséum d'Hist. naturelle **1900**, 125; idem, Passage de l'alcool ingéré dans quelques glandes et sécretions génitales. Compt. rend. Soc. Biol. **52**, 622.

schiedenen Geweben, Säften und Ausscheidungen des Körpers, sowie dessen Übergang auf den Foetus bei Tieren und teilweise auch beim Menschen studiert und hierbei auch bereits der Milch ein näheres Augenmerk zugewendet.

Seine a. a. O. wiedergegebene, auch von uns angewandte Methode[1]) der Alkoholbestimmung durch Titration alkoholhaltiger Destillate der tierischen Organe usw. mit Kaliumbichromat-Schwefelsäure gestattet einen peinlich genauen Nachweis auch sehr geringer Alkoholmengen.

Die hierher gehörigen Versuche von Nicloux wurden an Tieren (Hündinnen, Schafen) und Frauen vorgenommen.

Versuche an Tieren. Gemessene Alkoholmengen wurden den Tieren in 10%iger wäss. Lösung mittels Schlundsonde in den Magen eingeführt; insgesamt 3 bis 5 ccm pro 1 kg Lebendgewicht. $^1/_2$ bis $7^1/_2$ Stunden nach Schluß der Alkoholzufuhr wurden den Tieren Milchproben abgenommen und auf ihren Alkoholgehalt untersucht. Eine Bestimmung der Gesamtmilchmengen während der Versuchszeit fand nicht statt. Die verabreichten Alkoholgaben sind hoch; sie führten bei den Versuchshündinnen völlige Betrunkenheit herbei. Nachstehende Tabelle (s. S.78) bringt die Resultate der von Nicloux vorgenommenen Untersuchungen an Tieren:

Bei den Versuchen in Tabelle I handelt es sich durchweg um eine recht erhebliche Alkoholzufuhr; das Minimum der verabreichten Menge würde für eine Kuh mit einen durchschnittlichem Körpergewicht von 500 kg einer Tagesgabe von 1500 ccm Alkohol abs. auf einmal entsprechen. Aus den vorliegenden Zahlen ist eine Beziehung der ausgeschiedenen Gesamtmengen an Alkohol auf die Zufuhr mangels Angaben über die gesamte Milchleistung der Tiere während der Versuchszeit nicht sicher nachzuweisen. Interessant erscheint nach Nicloux der Umstand, daß bei der noch nicht in voller Lactation befindlichen Hündin Nr. 3 die Konzentration der spärlichen Milch an Alkohol etwas erhöht, bei dem reichlich milchenden Schaf dagegen gegenüber dem Mittel der Hundeversuche 1 und 2 wesentlich niedriger ist. Unseres Erachtens erscheint dieser Schluß Nicloux' doch nicht gerechtfertigt. Die Versuche am Schaf sind streng vergleichbar nur mit der Hündin Nr. 1, die pro Körperkilogramm die gleiche Alkoholdosis erhielt wie jenes. In den ersten Milchproben der Hündin betrug der Alkoholgehalt 0,24 bis 0,25%, während in dem analogen Versuch am Schaf zuerst erheblich geringere Quantitäten an Alkohol (0,16, bzw. 0,19 ccm in 100 ccm Milch) durch die Milchdrüse sezerniert worden waren. Dann steigt der Alkoholgehalt an, und zwar auf 0,21 ccm in 100 ccm Milch, und kommt damit der Konzentration der Hundemilch nahe. Was die in der Schafmilch zunächst gefundenen gegenüber dem Hunde wesentlich geringeren Alkoholmengen betrifft, so

---

[1]) Siehe hierzu auch W. Völtz, A. Baudrexel und W. Dietrich, Über die Ausscheidung des Alkohols durch den menschlichen und tierischen Organismus unter verschiedenen Bedingungen. Arch. f. d. ges. Physiol. **1910** bis **1912** und diese Zeitschr. **1912**.

Tabelle I. Versuche von Nicloux an Tieren.

Versuch Nr. Versuchs-tiere und Lebend-gewicht	Zufuhr von Alk. abs.		Zeit nach d. Zufuhr	Alk. abs. in 100 ccm Milch	Bemerkungen
	pro kg Leb.-Gew. ccm	insges. ccm		ccm	
1 Hündin 10,5 kg	3	31	1h 00′ 1h 50′ 7h 50′	0,25 0,24 0,11	Nach 1/2 Stunde Betrunkenheit, die mehrere Stunden anhält. 2 Tage post partum.
2 Hündin 16,5 kg	4	66	30′ 1h 00′ 2h 00′ 3h 00′ 6h 00′	0,26 0,36 0,39 0,30 0,20	Nach 1/2 Stunde Trunkenheit; dieselbe steigert sich bis zur Bewußtlosigkeit und hielt den Tag über an. 6 Tage post partum.
3 Hündin 11,8 kg	5	59	30′ 1h 30′ 2h 30′ 3h 30′ 4h 30′	0,24 0,33 0,39 0,37 0,34	Nach 1/2 Stunde deutlich Excitation; nach 1/2 Stunde völlige Trunkenheit. — Dieses Tier steht ante partum; Milchdrüsen noch nicht in voller Tätigkeit.
4 Schaf 22 kg	3	66	30′ 1h 00′ 1h 30′ 2h 30′ 3h 30′ 4h 30′ 5h 30′ 6h 30′ 7h 30′ 23h 00′	0,16 0,19 0,21 0,21 0,20 0,18 0,17 0,15 0,13 —	In voller Lactation; 8 Tage post partum. — Nach 1 1/2 Stunde leichte Alkoholerscheinungen (Schwierigkeit, aufrecht zu stehen).

erklären sich dieselben zwanglos aus der beim Wiederkäuer erheblich langsameren Resorption. Wir wissen genau, daß selbst beim Hunde nach Zufuhr von ca. 2 ccm Alkohol pro Körperkilogramm in einer Dosis die Resorption erst nach ca. 1 Stunde beendet ist[1]). Für den Wiederkäuer liegen direkte Untersuchungen noch nicht vor; doch dürfte hier sämtlicher Alkohol erst nach wesentlich längerer Zeit in die Blutbahn gelangen. Daß bei den Versuchen von Nicloux vielleicht auch die stärkere Konzentration der in relativ geringen Quantitäten sezernierten Hundemilch von Einfluß auf die beobachteten analytischen Daten hinsichtlich der Alkoholkonzentration in der Milch gewesen sein mag, soll zugegeben werden.

In der nächsten Tabelle sind die von Nicloux an stillenden Frauen erzielten Ergebnisse zusammengestellt:

[1]) Noch nicht publizierte Arbeiten von W. Völtz und W. Dietrich.

Tabelle II. Versuche von Nicloux an Frauen.

Versuch Nr.	Zufuhr		Zeit nach der Zufuhr	Alk. abs. in 100 ccm Milch	Bemerkungen
	Rum ccm	Alk. abs. ccm		ccm	
1 (1512)	60	27	1h 00′	0,040	Der Rum wird mit 120 ccm Milch und 20 ccm Sirup auf einmal verabreicht. — Ernährung normal, kein Wein.
			2h 00′	0,024	
			4h 00′	0,006	
			7h 00′	—	
2 (1499)	60	27	30′	0,080	do.
			2h 00′	0,072	
			4h 30′	0,034	
			7h 00′	Spur	
3 (1528)	60	27	15′	0,056	do.
			45′	0,083	
			2h 00′	0,036	
			4h 30′	Spur	
4 (1541)	60	27	15′	0,020	do.
			30′	0,032	
			45′	0,032	
			1h 00′	0,028	
			1h 30′	0,024	
			2h 00′	0,016	
5 (1564)	60	27	15′	0,017	do.
			30′	0,027	
			45′	0,034	
			1h 00′	0,042	
			1h 30′	0,024	
			2h 00′	0,017	

Trotzdem nach den Versuchsergebnissen von Nicloux also nur verschwindend geringe Alkoholmengen in die Frauenmilch übergegangen sind, ist dieser Autor der Ansicht, daß seine Ergebnisse die Störungen erklären lassen, die nach Beobachtungen von Klinikern an Säuglingen Alkohol genießender Ammen festgestellt sind (Verdauungsstörungen, Nervenerscheinungen, Krämpfe). Leider lassen die Ausführungen Nicloux' jeden Beweis für seine diesbezüglichen Behauptungen vermissen. Rosemann[1]) berechnet aus den Nicloux schen Werten, daß nur unter besonders hoch gegriffenen Dosen, wenn die Wöchnerin 60 ccm Rum auf einmal trank, ein Säugling ca. 0,2 ccm Alkohol am Tage mit der Milch erhalten könne, bzw. 0,04 ccm pro Körperkilogramm. Rosemann schließt seine Kritik der Nicloux schen Arbeit mit dem Urteil, daß eine Schädigung des Säuglings durch in die Muttermilch übergehenden Alkohol nur bei einem ganz eklatanten Alkoholmißbrauch der Stillenden in Frage käme, wäh-

[1]) R. Rosemann, Alkohol. Handb. d. Biochem. d. Menschen u. d. Tiere 4, 1. Hälfte, 420.

rend mäßiger Alkoholgenuß in dieser Hinsicht ganz indifferent wäre. Was die klinisch beobachteten Schädigungen des Säuglings beträfe, so dürften dieselben auf ganz andere Ursachen zurückzuführen sein als auf den Alkoholgenuß der Mütter[1]). Hierfür führt Rosemann (Arch. f. d. ges. Physiol. 78, S. 500) unter anderem einen Fall von Toulouse[2]) an. Die Nährmutter des betreffenden Kindes trank täglich 1 l Wein und dazwischen oft Absynth. Die Nahrung wurde von dem Kinde jedesmal erbrochen und außerdem stellten sich lang andauernde Konvulsionen ein. Nach dem Absetzen von der Mutterbrust gedieh das Kind sehr gut. Rosemann weist auf die in dem Absynth außer dem Alkohol enthaltenen Öle hin, die teils epileptische Krämpfe, teils Stupor und Narkose verursachen können. Es sei naheliegend, die an dem Säugling beobachteten Erscheinungen auf den Übergang der giftigen Öle in die Milch zurückzuführen, und auch Toulouse habe die Möglichkeit dieser Ätiologie zugegeben.

Beim Studium der Arbeiten, deren wichtigste Ergebnisse wir vorstehend mitgeteilt haben, fanden wir, daß vor allem zwei Fragen, die uns von besonderer Wichtigkeit erschienen, auf Grund der bisherigen Versuchsanstellungen nicht beantwortet werden konnten. Dies sind

1. der Einfluß der Gewöhnung auf den Übergang des Alkohols in die Milch, und

2. die Beziehung zwischen Alkoholzufuhr und Gesamtausscheidung durch die Milchdrüse unter wechselnden Bedingungen.

Zu 1. sei auf die Arbeiten des einen von uns[3]) hingewiesen, aus denen hervorgeht, daß die durch Harn und Atmung zur Ausscheidung kommenden Alkoholmengen wesentlich von der Gewöhnung abhängig sind, derart, daß ceteris paribus ein an Alkohol gewöhntes Individuum erheblich geringere Quantitäten hiervon durch die genannten Ausscheidungswege entfernt, als ein an Alkohol nicht gewöhntes. Übrigens erfolgt eine vollständige

---

[1]) Trotz dieser wohlbegründeten Ausführungen von Rosemann wird auch heute noch vielfach seitens der maßgebenden Stellen die Giftigkeit der Milch von Frauen, die Alkohol genießen, ohne Einschränkung behauptet. Auch das Reichsgesundheitsamt (Merkblatt 1912) vertritt diesen Standpunkt.

[2]) C. Toulouse, Convulsions infantiles par alcoolisme de la nourrice. Lancette française. Gaz. d. Sop. **64**, 914, 1891. Ref. in Virchow-Hirschs Jahresber. **26**, H. 2, S. 597.

[3]) Wilhelm Völtz und August Baudrexel, Über die vom tierischen Organismus unter verschiedenen Bedingungen ausgeschiedenen Alkoholmengen. Arch. f. d. ges. Physiol. **138**, 85 bis 133, 1911.

Gewöhnung in diesem Sinne in relativ recht kurzer Zeit (ca. 2 Wochen). Es war durchaus wahrscheinlich, daß auch die Ausscheidung des Alkohols durch die Milchdrüse bei stillenden Frauen oder säugenden Tieren in analoger Weise beeinflußt würde.

Zu 2. Bei den bisher einzigen methodisch wirklich genauen Untersuchungen über diesen Gegenstand, nämlich denen von Nicloux, sind die Tagesmengen der Milch und deren gesamter Alkoholgehalt nicht bestimmt worden. Dieser Forscher hat nur zahlreiche Einzelproben auf ihren Alkoholgehalt untersucht und war daher in bezug auf die insgesamt zur Ausscheidung gelangenden Alkoholmengen auf Schätzungen angewiesen. Rosemann (l. c.) hatte zwar die gesamte Milchmenge bestimmt, seine Alkoholbestimmungsmethode war jedoch zu ungenau, um ganz eindeutige Schlüsse bezüglich des Alkoholgehaltes der Milch gestatten zu können.

Eigene Versuche.

Als Versuchstiere dienten zwei ca. 4 bis 5 Jahre alte, 500 kg schwere Kühe, Nr. 1 und Nr. 4, vom Typus der norddeutschen Niederungsrinder. Dieselben standen zur Zeit der Versuche in der Mitte der Lactation. Die Versuche begannen am 27. März 1913 und wurden bis zum 29. April dieses Jahres fortgesetzt.

Die Futterration für die Kuh Nr. 1 bestand aus Wiesenheu guter Qualität, Haferstroh, Malzkeimen, Kartoffelflocken und Trockenhefe. Auf eine genaue Bestimmung des Futterverzehrs wurde in den vorliegenden Versuchen an diesem Tier verzichtet. Während der Alkoholversuche erhielt die Kuh, zusammen mit dem Alkohol, Kartoffelschlempe, über deren Menge und Konzentration unten nähere Angaben gemacht werden.

Die Kuh Nr. 4 befand sich mit anderen Kühen in quantitativen Ausnutzungsversuchen; dieselbe wog 505 kg und erhielt am ersten Versuchstage (22. April), wie seit 13 Tagen regelmäßig pro die 9,35 kg Trockensubstanz in Form von gutem Wiesenheu und 1,35 kg Trockensubstanz in Form von getrockneter Brauereihefe. Am zweiten Tage des Alkoholversuchs wurde an dieser Kuh gerade eine neue Futterperiode mit ausschließlicher Heuzufuhr (9,35 kg Heutrockensubstanz) begonnen.

Der Alkoholgehalt der für die Zufuhr benutzten konzentrierten (94 bis 95 %igen) Lösungen wurde aräometrisch bestimmt, während die Milchdestillate nach der Nicloux schen Methode auf Alkohol untersucht wurden. Der Alkohol wurde an die Kuh Nr. 1 mit je 21 kg Kartoffelschlempe verabreicht. Die aufgenommene Schlempemenge bestand aus 0,90 kg Schlempetrockensubstanz und 20,1 kg Wasser, dazu 200, bzw. 400 ccm absoluter Alkohol. Die Kuh erhielt entweder 21 kg Schlempe mit dem Alkohol mittags, unmittelbar nachdem sie gemolken war, in einer Dosis, oder die doppelte Menge in zwei gleich großen Gaben mittags und abends. Der Alkoholgehalt der verfütterten flüssigen Schlempe betrug demnach 0,95, bzw. 1,9 %. Wir sind aus theoretischen Gründen, speziell um starke Ausschläge zu erhalten, absichtlich über 1 % Alkoholgehalt der Schlempe hinausgegangen. In praxi sind derartig alkoholreiche Schlempen als dauernde Betriebserscheinung ausgeschlossen, worauf bereits Rosemann (l. c.) hingewiesen hat, indem er in Übereinstimmung mit den Sachverständigen schon Schlempen mit 0,1 bis 0,3 % als betriebstechnisch mangelhaft bezeichnete. Die Kuh Nr. 4 erhielt den Alkohol in ca. 4 bis 6 l Tränkwasser.

Bezüglich der Probenahme für die Alkoholbestimmungen sei hervorgehoben, daß wir sowohl das Gewicht der täglich dreimal ermolkenen Milchmengen, als auch ihren Alkoholgehalt gesondert bestimmt haben. In einem Versuch wurde die Tagesmilch in fünf einzelnen Fraktionen gewonnen und auf Alkohol untersucht.

Zum Nachweis des Alkohols destillierten wir im allgemeinen 100 bis 200 g, in einzelnen Fällen 500 bis 1000 g Milch. Die Destillation erfolgte entweder direkt oder, wenn die Milch stark schäumte, nach Fällung der Proteine. Hierzu dienten entweder einige Tropfen H_2SO_4, die nach dem Ausfällen mit MgO neutralisiert wurden, oder das gleiche Fällungsmittel in Verbindung mit $HgCl_2 + NaCl$. Beim Kochen mit Sublimat blieb die Milch ungefärbt, während sie sowohl mit als ohne H_2SO_4-Zusatz sich im Laufe der Destillation leicht gelb bis hellbraun färbte. Es erwies sich als zweckmäßig, die Milch vor der Fällung bzw. Destillation durch Zusatz von destilliertem Wasser auf ungefähr das doppelte Volumen zu bringen.

Wir haben uns übrigens in besonderen Kontrollversuchen davon überzeugt, daß das quantitative Ergebnis der Destillation durch die Art des Destillierverfahrens, bzw. die zugesetzten Fällungsmittel nicht beeinflußt wurde.

Bei sehr geringem Alkoholgehalt der Destillate haben wir diese zwecks Konzentration der alkoholischen Lösung mehrfach (2 bis 3 mal) destilliert. Ferner wurden Versuche angestellt, um das Vorhandensein von etwaigen reduzierenden Substanzen in Milchdestillaten bei alkoholfreiem Regime zu prüfen; wir benutzten hierzu in einzelnen Fällen 500 g, in anderen Fällen 1000 g Milch und brachten das hieraus erhaltene Destillat durch mehrfache Wiederholung der Destillation schließlich auf 50 ccm. Die Destillate waren frei von reduzierenden Stoffen.

Um die Genauigkeit der Methode zu prüfen, wurden folgende Kontrollversuche mit Zusatz genau bekannter Alkoholdosen zu bestimmten Milchmengen durchgeführl.

Kontrollversuch 1.

Zu 100 g Milch + destilliertem Wasser wurden 0,2 ccm Alkohol abs. in 5%iger Lösung zugesetzt und auf 200 ccm abdestilliert. Es wurden 0,2 ccm Alkohol abs. im Destillat wiedergefunden.

Kontrollversuch 2.

In 100 g Milch wurden 20 ccm 86%iger Alkohol = 17,2 ccm Alkohol abs. zugesetzt und nach Wasserzusatz auf 300 ccm abdestilliert. In der 100 fach verdünnten Lösung des Destillates wurde nach Nicloux-scher Vorschrift der Alkohol bestimmt und 17,1 ccm Alkohol abs. insgesamt wiedergefunden.

Über die Anstellung und Ergebnisse der einzelnen Versuche geben die nachfolgenden Einzelprotokolle Aufschluß.

Bemerkt sei noch, daß das spezifische Gewicht der Milch von Kuh Nr. 1 mehrfach zu 1,031 ermittelt wurde. Eine regelmäßige Bestimmung des spezifischen Gewichtes erfolgte hier nicht. Das spezifische Gewicht der Milch von Kuh Nr. 4 wurde vor und nach den Alkoholversuchen (22. und 23. IV.), und zwar am 18. IV. zu 1,032, am 6. V. zu 1,031 bestimmt. Die Milch beider Kühe war stets von einwandfreier Beschaffenheit. Wo nichts Besonderes bemerkt ist, hat die Kuh an den versuchsfreien Tagen je 400 ccm Alkohol abs. erhalten.

Versuch 1.

Kuh Nr. 1.

Datum: 27./28. III. 1913.

Zeit: 2[h] nachmittags.

Alkoholzufuhr: 400 ccm 50 %iger Alkohol = 200 ccm Alkohol absol. mit 0,9 kg Schlempetrockensubstanz + 20,1 kg Wasser; also 21 kg Schlempe mit 0,95 % Alkohol.

Einzelgemelke:	Abend	2,40 kg	mit = 0,49 ccm	= 0,39 g	Alk.	absol.
	Morgen	3,20 „	„ = — „	= — „	„	„
	Mittag	1,60 „	„ = — „	= — „	„	„
Tagesgemelk:		7,20 kg	mit = 0,49 ccm	= 0,39 g	Alk.	absol.

In der Tagesmilch sind somit erschienen:

0,49 ccm = 0,39 g Alkohol absol. = 0,24 % der Zufuhr.

In 1 kg Milch sind also vorhanden:

0,07 ccm = 0,05 g Alkohol absol. = 0,04 % der Zufuhr.

Versuch 2.

Kuh Nr. 1.

Datum: 28./29. III. 1913.

Zeit: 3[h] nachmittags.

Alkoholzufuhr: 421,5 ccm 94,9 %iger Alkohol = 400 ccm Alkohol absol. mit 0,9 kg Schlempetrockensubstanz + 20,1 kg Wasser; also 21 kg Schlempe mit 1,90 % Alkohol.

Einzelgemelke:	Abend	1,50 kg	mit = 1,08 ccm	= 0,86 g	Alk.	absol.
	Morgen	3,20 „	„ = 1,15 „	= 0,91 „	„	„
	Mittag	1,60 „	„ = 0,35 „	= 0,28 „	„	„
Tagesgemelk:		6,30 kg	mit = 2,58 ccm	= 2,05 g	Alk.	absol.

In der Tagesmilch sind somit erschienen:

2,58 ccm = 2,05 g Alkohol absol. = 0,65 % der Zufuhr.

In 1 kg Milch sind also vorhanden:

0,41 ccm = 0,33 g Alkohol absol. = 0,10 % der Zufuhr.

Versuch 3.

Kuh Nr. 1.

Datum: 31. III./1. IV. 1913.

Zeit: 2[h] nachmittags.

Alkoholzufuhr: 421,5 ccm 94,9 %iger Alkohol = 400 ccm Alkohol absol. mit 0,9 kg Schlempetrockensubstanz + 20,1 kg Wasser; also 21 kg Schlempe mit 1,90 % Alkohol.

Einzelgemelke:	Abend	1,55 kg	mit = 1,02 ccm	= 0,81 g	Alk.	absol.
	Morgen	3,25 „	„ = 0,13 „	= 0,10 „	„	„
	Mittag	1,60 „	„ = — „	= — „	„	„
Tagesgemelk:		6,40 kg	mit = 1,15 ccm	= 0,91 g	Alk.	absol.

In der Tagesmilch sind somit erschienen:

1,15 ccm = 0,91 g Alkohol absol. = 0,29 % der Zufuhr.

In 1 kg Milch sind also vorhanden:

0,18 ccm = 0,14 g Alkohol absol. = 0,04 % der Zufuhr.

Versuch 4.

Alkoholzufuhr in zwei Gaben.

Kuh Nr. 1.

Datum: 2./3. IV. 1913.

Zeit: $9^{1}/_{2}{}^{h}$ vormittags und 2 bis 5^{h} nachmittags je $^{1}/_{2}$ der Tagesdosis mit zugehöriger Schlempe.

Alkoholzufuhr (insgesamt): 421,5 ccm 94,9 %iger Alkohol = 400 ccm Alkohol absol. mit 1,8 kg Schlempe + 40,2 kg Wasser; also 42 kg Schlempe mit 0,95 % Alkohol.

Einzelgemelke:	Mittag	1,60 kg mit	= 0,58 ccm	= 0,46 g	Alk. absol.
	Abend	1,55 „ „	= 0,51 „	= 0,40 „	„ „
	Morgen	3,40 „ „	= — „	= — „	„ „
Tagesgemelk:		6,55 kg mit	= 1,09 ccm	= 0,86 g	Alk. absol.

In der Tagesmilch sind somit erschienen:

1,09 ccm = 0,86 g Alkohol absol. = 0,14 % der Zufuhr.

In 1 kg Milch sind also vorhanden:

0,17 ccm = 0,13 g Alkohol absol. = 0,04 % der Zufuhr.

Versuch 5.

Kuh Nr. 1.

Datum: 6./7. IV. 1913.

Zeit: 1^{h} nachmittags.

Alkoholzufuhr: 421,5 ccm 94,9 %iger Alkohol = 400 ccm Alkohol absol. mit 0,9 kg Schlempetrockensubstanz + 20,1 kg Wasser; also 21 kg Schlempe mit 1,90 % Alkohol.

Einzelgemelke:	Abend	1,60 kg mit	= 0,64 ccm	= 0,51 g	Alk. absol.
	Morgen	3,40 „ „	= 0,68 „	= 0,54 „	„ „
	Mittag	1,50 „ „	= 0,26 „	= 0,21 „	„ „
Tagesgemelk:		6,50 kg mit	= 1,58 ccm	= 1,26 g	Alk. absol.

In der Tagesmilch sind somit erschienen:

1,58 ccm = 1,26 g Alkohol absol. = 0,40 % der Zufuhr.

In 1 kg Milch sind also vorhanden:

0,25 ccm = 0,19 g Alkohol absol. = 0,06 % der Zufuhr.

Versuch 6.

Kuh Nr. 1.

Datum: 7./8. IV. 1913.

Zeit: 12^{h} mittags.

Alkoholzufuhr: 421,5 ccm 94,9 %iger Alkohol = 400 ccm Alkohol absol. mit 0,9 kg Schlempetrockensubstanz + 20,1 kg Wasser; also 21 kg Schlempe mit 1,90 % Alkohol.

Einzelgemelke:	Abend	2,48 kg mit	= 1,13 ccm	= 0,89 g	Alk. absol.
	Morgen	2,80 „ „	= — „	= — „	„ „
	Mittag	1,65 „ „	= — „	= — „	„ „
Tagesgemelk:		6,93 kg mit	= 1,13 ccm	= 0,89 g	Alk. absol.

In der Tagesmilch sind somit erschienen:

1,13 ccm = 0,89 g Alkohol absol. = 0,28 % der Zufuhr.

In 1 kg Milch sind also vorhanden:

0,16 ccm = 0,13 g Alkohol absol. = 0,04 % der Zufuhr.

Anmerkung: Die Gewinnung der Abendmilch erfolgte bei Versuch 6 in drei Fraktionen, um den zeitlichen Ablauf der Alkoholausscheidung näher kennen zu lernen. Hierüber nachstehende Angaben des Versuchsprotokolls:

Alkoholzufuhr um 12^h (s. oben).

1. Milchprobe	$3^1/_4{}^h$ nachm.:	0,850 kg mit	% = 0,62 ccm	= 0,49 g Alk. abs.
2. „	$6^1/_4{}^h$ „ :	0,660 „ „	% = 0,28 „	= 0,22 „ „ „
3. „	$9^1/_4{}^h$ „ :	0,970 „ „	% = 0,23 „	= 0,18 „ „ „

Das Maximum der Ausscheidung liegt also in den ersten drei Stunden nach der Zufuhr. Nach 9 Stunden war die Ausscheidung beendet.

Versuch 7.

Alkoholzufuhr in 2 Dosen.

Kuh Nr. 1.

Datum: 8./9. IV. 1910.

Zeit: 12^h mittags und 6^h nachmittags je $^1/_2$ der Tagesdosis nebst zugehöriger Schlempe.

Alkoholzufuhr: 421,5 ccm 94,9 %iger Alkohol = 400 ccm Alkohol absol. mit 1,8 kg Schlempetrockensubstanz + 40,2 kg Wasser; also 42 kg Schlempe mit 0,95 % Alkohol.

Einzelgemelke: Abend	1,70 kg mit	= 0,07 ccm	= 0,06 g Alk. absol.
Morgen	3,60 „ „	= 0,11 „	= 0,09 „ „ „
Mittag	1,40 „ „	= — „	= — „ „ „
Tagesgemelk:	6,70 kg mit	= 0,18 ccm	= 0,15 g Alk. absol.

In der Tagesmilch sind somit erschienen:

0,18 ccm = 0,15 g Alkohol absol. = 0,04 % der Zufuhr.

In 1 kg Milch sind also vorhanden:

0,03 ccm = 0,02 g Alkohol absol. = 0,008 % der Zufuhr.

Anmerkung: In diesem Versuche tritt der steigende Einfluß der Gewöhnung auf die Verringerung der Alkoholausscheidung bereits eklatant zutage.

Versuch 8.

Alkoholzufuhr in 2 Dosen.

Kuh Nr. 1.

Datum: 9./10. IV. 1913.

Zeit: Mittags 12^h und nachmittags 6^h je $^1/_2$ der Tagesdosis mit zugehöriger Schlempe.

Alkoholzufuhr: 843,0 ccm 94,9 %iger Alkohol = 800,0 ccm Alkohol absolutus mit 1,8 kg Schlempetrockensubstanz + 40,2 kg Wasser; also 42 kg Schlempe mit 1,90 % Alkohol.

Einzelgemelke:	Abend	1,70 kg mit	= 0,22 ccm	= 0,17 g Alk. absol.
	Morgen	3,60 „ „	= 0,19 „	= 0,15 „ „ „
	Mittag	1,60 „ „	= — „	= — „ „ „
	Tagesgemelk:	6,90 kg mit	= 0,41 ccm	= 0,32 g Alk. absol.

In der Tagesmilch sind somit erschienen:

0,41 ccm = 0,32 g Alkohol absol. = 0,05 % der Zufuhr.

In 1 kg Milch sind also vorhanden:

0,06 ccm = 0,05 g Alkohol absol. = 0,008 % der Zufuhr.

Auch hier ist der fortschreitende Einfluß der Gewöhnung deutlich.

Versuch 9.

Kuh Nr. 1.

Datum: 14./15. IV. 1913.

Zeit: $1^1/_4{}^h$ nachmittags.

Alkoholzufuhr: 421,5 ccm 94,9 %iger Alkohol = 400,0 ccm Alkohol absolutus mit 0,9 kg Schlempetrockensubstanz + 20,1 kg Wasser; also 21 g Schlempe mit 1,0 % Alkohol.

Einzelgemelke:	Abend	1,40 kg mit	= 0,49 ccm	= 0,39 g Alk. absol.
	Morgen	3,80 „ „	= 0,23 „	= 0,18 „ „ „
	Mittag	1,65 „ „	= — „	= — „ „ „
	Tagesgemelk:	6,85 kg mit	= 0,72 ccm	= 0,57 g Alk. absol.

In der Tagesmilch sind somit erschienen:

0,72 ccm = 0,57 g Alkohol absol. = 0,18 % der Zufuhr.

In 1 kg Milch sind also vorhanden:

0,11 ccm = 0,08 g Alkohol absol. = 0,03 % der Zufuhr.

Anmerkung: Die Kuh erhielt zwischen Versuch 8 und 9 keinen Alkohol; bemerkenswert ist die infolgedessen steigende Tendenz zur Alkoholausscheidung.

Versuch 10.

Kuh Nr. 1.

Datum: 17./18. IV. 1913.

Zeit: 2^h nachmittags.

Alkoholzufuhr: 66,3 ccm 94,9 %iger Alkohol = 63,0 ccm Alkohol absolutus mit 0,9 kg Schlempetrockensubstanz + 20,1 kg Wasser, also 21 kg Schlempe mit 0,30 % Alkohol.

Einzelgemelke:	Abend	1,90 kg mit	= — ccm	= — g Alk. absol.
	Morgen	3,70 „ „	= — „	= — „ „ „
	Mittag	1,60 „ „	= — „	= — „ „ „
	Tagesgemelk:	7,20 kg mit	= — ccm	= — g Alk. absol.

In der Milch ist somit kein Alkohol erschienen.

Anmerkung: Die im vorliegenden Versuch gewählte Alkoholkonzentration der Schlempe entspricht etwa dem Maximum der, abgesehen von ganz vereinzelten Betriebsstörungen, praktisch vorkommenden Mengen.

Versuch 11.

Alkoholzufuhr in 2 Dosen.

Kuh Nr. 1.

Datum: 18./19. IV. 1913.

Zeit: $1^1/_2{}^h$ nachmittags und $6^1/_2{}^h$ nachmittags je $^1/_2$ der Tagesdosis mit zugehöriger Schlempe.

Alkoholzufuhr: 132,6 ccm 94,9 %iger Alkohol = 126,0 ccm Alkohol absolutus mit 1,8 kg Schlempetrockensubstanz + 40,2 kg Wasser, also 42 kg Schlempe mit 0,30 % Alkohol.

Einzelgemelke:	Abend	1,65 kg mit	— ccm =	— g Alk. absol.
	Morgen	3,55 „ „	— „ =	— „ „ „
	Mittag	1,65 „ „	— „ =	— „ „ „
	Tagesgemelk:	6,85 kg mit	— ccm =	— g Alk. absol.

In der Milch ist somit kein Alkohol erschienen.

Bezüglich der Alkoholkonzentration gilt das zu Versuch 10 Bemerkte; die absolute Zufuhr ist hier gegen Versuch 10 verdoppelt.

Versuch 12.

Kuh Nr. 4.

Datum: 22./23. IV. 1913.

Zeit: Mittags 12^h.

Alkoholzufuhr: 66,3 ccm 94,9 %iger Alkohol = 63,0 ccm Alkohol absolutus mit — kg Schlempe + 4 kg Wasser.

Einzelgemelke:	Abend	1,60 kg mit	0,064 ccm =	0,051 g Alk. abs.
	Morgen	3,05 „ „	0,061 „ =	0,048 „ „ „
	Mittag	1,50 „ „	— „ =	— „ „ „
	Tagesgemelk:	6,15 kg mit	0,125 ccm =	0,099 g Alk. abs.

In der Tagesmilch sind somit erschienen:

0,125 ccm = 0,099 g Alkohol absol. = 0,20 % der Zufuhr.

In 1 kg Milch sind also vorhanden:

0,022 ccm = 0,016 g Alkohol absol. = 0,03 % der Zufuhr.

Anmerkung: Diese Kuh hatte bisher keinen Alkohol erhalten.

Versuch 13.

Kuh Nr. 1.

Datum: 23./24. IV. 1913.

Zeit: 1^h nachmittags.

Alkoholzufuhr: 421,5 ccm 94,9 %iger Alkohol = 400,0 ccm Alkohol absolutus mit 0,9 kg Schlempetrockensubstanz + 20,1 kg Wasser, also 21 kg Schlempe mit 1,90 % Alkohol.

Einzelgemelke:	Abend	1,60 kg mit	0,64 ccm =	0,51 g Alk. absol.
	Morgen	3,40 „ „	0,07 „ =	0,05 „ „ „
	Mittag	1,50 „ „	— „ =	— „ „ „
	Tagesgemelk:	6,50 kg mit	0,71 ccm =	0,56 g Alk. absol.

In der Tagesmilch sind somit erschienen:

0,71 ccm = 0,56 g Alkohol absol. = 0,18 % der Zufuhr.

In 1 kg Milch sind also vorhanden:

0,11 ccm = 0,09 g Alkohol absol. = 0,03 % der Zufuhr.

Versuch 14.

Alkoholzufuhr in 2 Dosen.

Kuh Nr. 4.

Datum: 24./25. IV. 1913.

Zeit: $1^{1}/_{2}{}^{h}$ nachmittags und 7^{h} abends je $^{1}/_{2}$ der Tagesdosis mit je 4 l Wasser.

Alkoholzufuhr: 132,6 ccm 94,9 $^0/_0$ iger Alkohol = 126,0 ccm Alkohol absolutus + 8 kg Wasser.

Einzelgemelke:	Abend	1,60 kg	mit	0,048 ccm	=	0,038 g	Alk.	abs.
	Morgen	2,80 „	„	0,084 „	=	0,067 g	„	„
	Mittag	1,50 „	„	— „	=	—	„ „	„
	Tagesgemelk:	5,90 kg	mit	0,132 ccm	=	0,105 g	Alk.	abs.

In der Tagesmilch sind somit erschienen:

0,132 ccm = 0,105 g Alkohol absol. = 0,105 $^0/_0$ der Zufuhr.

In 1 kg Milch sind also vorhanden:

0,022 ccm = 0,018 g Alkohol absol. = 0,017 $^0/_0$ der Zufuhr.

Bemerkenswert ist auch hier der beginnende Einfluß der Gewöhnung, indem bei der gegen Versuch 12 verdoppelten Zufuhr prozentual nur etwa die Hälfte des dort ausgeschiedenen Alkoholquantums in der Milch erscheint.

Versuch 15.

Alkoholzufuhr in 2 Dosen.

Kuh Nr. 1.

Datum: 28./29. IV. 1913.

Zeit: $12^{1}/_{2}{}^{h}$ nachmittags und $7^{1}/_{2}{}^{h}$ abends je $^{1}/_{2}$ der Tagesdosis mit zugehöriger Schlempe.

Alkoholzufuhr: 843,0 ccm 94,9 $^0/_0$ iger Alkohol = 800,0 ccm Alkohol absolutus mit 1,8 kg Schlempetrockensubstanz + 40,2 kg Wasser; also 42 kg Schlempe mit 1,9 $^0/_0$ Alkohol.

Einzelgemelke:	Abend	1,50 kg	mit	0,34 ccm	=	0,27 g	Alk.	absol.
	Morgen	3,85 „	„	0,14 „	=	0,11 „	„	„
	Mittag	1,60 „	„	— „	=	— „	„	„
	Tagesgemelk:	6,95 kg	mit	0,48 ccm	=	0,38 g	Alk.	absol.

In der Tagesmilch sind somit erschienen:

0,48 ccm = 0,38 g Alkohol absol. = 0,06 $^0/_0$ der Zufuhr.

In 1 kg Milch sind also vorhanden

0,07 ccm = 0,05 g Alkohol absol. = 0,009 $^0/_0$ der Zufuhr.

Der Einfluß der Gewöhnung auf die Alkoholausscheidung tritt erneut deutlich in Erscheinung; vgl. Versuch 8.

Versuch 16.

Kuh Nr. 1.

Datum 29./30. IV. 1913.

Zeit: $12^{1}/_{2}{}^{h}$ nachmittags.

Alkoholzufuhr: 421,5 ccm 94,9 $^0/_0$ iger Alkohol = 400,0 ccm Alkohol

absolutus mit 0,9 kg Schlempetrockensubstanz + 20,1 kg Wasser; also 21 kg Schlempe mit 1,90 % Alkohol.

Einzelgemelke:	Abend 1,85 kg mit		0,40 ccm = 0,32 g Alk. absol.
	Morgen 3,90 „ „	Spur	— „ = — „ „ „
	Mittag 1,60 „ „		— „ = — „ „ „
Tagesgemelk:	7,35 kg mit		0,40 ccm = 0,32 g Alk. absol.

In der Tagesmilch sind somit erschienen:

0,40 ccm = 0,32 g Alkohol absol. = 0,10 % der Zufuhr.

In 1 kg Milch sind also vorhanden:

0,054 ccm = 0,043 g Alkohel absol. = 0,015 % der Zufuhr.

Tabelle III.

Übersicht über die Einzelversuche an Kuh Nr. 1 und Kuh Nr. 4.

Versuch Nr.	Kuh Nr.	Datum 1913	Zufuhr Alkohol absol. ccm	Gemelke abends kg	Gemelke morgens kg	Gemelke mittags kg	Gemelke Summa kg	Darin Alkohol absol. abends g	Darin Alkohol absol. morgens g	Darin Alkohol absol. mittags g	Darin Alkohol absol. Summa g	Alk. absol. in 1 kg Milch [1]) g	Alk. absol. in 1 kg Milch % der Zufuhr	Bemerkungen
1	1	27./28. III.	200,0	2,40	3,20	1,60	7,20	0,39	—	—	0,39	0,05	0,04	
2		28./29. „	400,0	1,50	3,20	1,60	6,30	0,86	0,91	0,28	2,05	0,33	0,10	
3		31./III.-1./IV.	400,0	1,55	3,25	1,60	6,40	0,81	0,10	—	0,91	0,14	0,04	
4		2./3. IV.	400,0	1,66	3,40	1,60	6,55	0,40	—	0,46 [2])	0,86	0,13	0,04	A. in 2 Dosen
5		6./7. „	400,0	1,60	3,40	1,50	6,50	0,51	0,54	0,21	1,26	0,19	0,06	
6		7./8. „	400,0	2,48 [3])	2,80	1,65	6,93	0,89	—	—	0,89	0,13	0,04	
7		8./9. „	400,0	1,60	3,65	1,70	6,95	0,06	0,09	—	0,15	0,02	0,008	A. in 2 Dosen
8		9./10. „	800,0	1,70	3,60	1,60	6,90	0,17	0,15	—	0,32	0,03	0,006	A. in 2 Dosen
9		14./15. „	400,0	1,40	3,80	1,65	6,85	0 39	0,18	—	0,57	0,08	0,03	
10		17./18. „	63,0	1,90	3,70	1,60	7,20	Kein Alkohol in der Milch nachweisbar						
11		18./19. „	**126,0 [4])**	**1,65**	**3,55**	**1,65**	**6,85**	„	„	„ „	„	„		A. in 2 Dosen
13		23./24. „	400,0	1,60	3,40	1,50	6,50	0,51	0,05	—	0,56	0,09	0,03	
15		28./29. „	800,0	1,50	3,85	1,60	6,95	0,27	0,11	—	0,38	0,05	0,009	A. in 2 Dosen
16		29./30. „	400,0	1,85	3,90	1,60	7,35	0,32	—	—	0,32	0,04	0,015	
12	4	22./23. „	63,0 [4])	1,60	3,05	1,50	6,15	0,051	0,048	—	0,099	0,016	0,032	
14		24./25. „	**126,0 [4])**	**1,60**	**2,80**	**1,50**	**5,90**	**0,038**	**0,067**	—	**0,105**	**0,018**	**0,016**	

[1]) Diese Zahlen sind der Übersichtlichkeit halber auf 2 Dezimalen abgerundet, wenn schon die Methode eine weitaus größere Genauigkeit zuließe.

[2]) Die Alkoholzufuhr erfolgte hier morgens; es ist also in der zeitlichen Reihenfolge mittags das erste, abends das zweite und am andern Morgen das dritte Einzelgemelk nach der Zufuhr.

[3]) Die Gewinnung der Abendmilch geschah in drei Einzelfraktionen (siehe Protokoll dieses Versuches).

[4]) Alkoholkonzentrationen, die allenfalls praktisch in Betracht kommen (siehe Anmerk. zu Vers.-Protokoll Nr. 10).

Tabelle IIIa.

Ergänzung der vorigen Tabelle.

Vers. Nr.	Datum 1913	Zufuhr Alkohol absol. ccm	Schlempegaben: Trockensubstanz kg	Schlempegaben: Wasser kg	Milchmenge kg	Milchmenge l	Bemerkungen
1	27./28. III.	200	0,9	20,1	6,98	6,20	
2	29. „	400	0,9	20,1	6,30	6,10	
3	31./III.-1./IV.	400	0,9	20,1	6,40	6,20	
4	2./3. IV.	400 [1])	1,8	40,2	6,55	6,34	[1]) Alkohol in 2 Dosen à 200 ccm
5	6./7. „	400	0,9	20,1	6,50	6,30	
6	7./8. „	400	0,9	20,1	6,93	6,72	
7	8./9. „	400 [2])	1,8	40,2	6,95	6,74	[2]) Alkohol in 2 Dosen à 200 ccm.
8	9./10. „	800 [3])	1,8	40,2	6,90	6,70	[3]) Alkohol in 2 Dosen à 400 ccm.
9	14./15. „	400	0,9	20,1	6,85	6,65	
10	17./18. „	63	0,9	20,1	7,20	6,98	
11	18./19. „	126 [4])	1,8	40,2	6,85	6,65	[4]) Alkohol in 2 Dosen à 63 ccm.
13	23./24. „	400	0,9	20,1	6,50	6,30	
15	28./29. „	800 [5])	1,8	40,2	6,95	6,75	[5]) Alkohol in 2 Dosen à 400 ccm.
16	29./30. „	400	0,9	20,1	7,35	7,14	
12	22./23. IV.	63	—	4,0	6,15	5,97	
14	24./25. „	126 [6])	—	8,0	5,90	5,63	[6]) Alkohol in 2 Dosen à 63 ccm.

Tabelle IV.

Alkoholgehalt der Milch, bezogen auf 1 kg bzw. 1 l des Tagesgemelkes.

Versuch Nr.	Kuh Nr.	Alkoholzufuhr pro Tag ccm	Tagesmilch (spez. Gewicht 1,031) kg	Tagesmilch l	Tagesmilch g	Darin Alk. absol. insgesamt ccm	Also in 1 l, bzw. 1 kg Milch Alkohol ccm	Also in 1 l, bzw. 1 kg Milch Alkohol g	Bemerkungen
1	1	200	7,20	6,98	0,39	0,49	0,09	0,05	
2		400	6,30	6,10	2,05	2,58	0,42	0,33	
3		400	6,40	6,20	0,91	1,15	0,18	0,14	
4		400 [1])	6,55	6,34	0,86	1,09	0,17	0,13	[1]) In 2 Dosen à 200 ccm.
5		400	6,50	6,30	1,26	1,58	0,25	0,19	
6		400	6,93	6,72	0,89	1,13	0,17	0,13	
7		400 [2])	6,95	6,74	0,15	0,18	0,03	0,02	[2]) In 2 Dosen à 200 ccm.
8		800 [3])	6,90	6,70	0,32	0,41	0,05	0,03	[3]) In 2 Dosen à 400 ccm.
9		400	6,85	6,65	0,57	0,72	0,11	0,08	
10		63	7,20	6,98	—	—	—	—	
11		**126 [4])**	**6,85**	**6,65**	—	—	—	—	[4]) In 2 Dosen à 63 ccm.
13		400	6,50	6,30	0,56	1,71	0,11	0,09	
15		800 [5])	6,95	6,75	0,38	0,48	0,07	0,05	[5]) In 2 Dosen à 400 ccm.
16		400	7,35	7,14	0,32	0,40	0,06	0,04	
12	4	63	6,15	5,97	0,099	0,12	0,02	0,016	
14		**126 [6])**	**5,90**	**5,63**	**0,105**	**0,13**	**0,02**	**0,018**	[6]) In 2 Dosen à 63 ccm.
17	*)	—	—	—	—	—	—	—	Kontrollvers.: Milch bei alkoholfr. Regime.

*) 5 verschiedene Kühe bei alkoholfreiem Regime.

Tabelle V.
Alkoholgehalt der Milch bezogen auf die Tageszufuhr.

Versuch Nr.	Kuh Nr.	Alkoholzufuhr pro Tag ccm	Alkohol absol. im Tagesgemelk insgesamt ccm	Alkohol absol. % der Tageszufuhr	Bemerkungen
1	1	200	0,49	0,24	
2		400	2,58	0,65	
3		400	1,15	0,29	
4		400 [1])	1,09	0,27	[1]) In 2 Dosen à 200 ccm.
5		400	1,58	0,40	
6		400	1,13	0,28	
7		400 [2])	0,18	0,04	[2]) In 2 Dosen à 200 ccm.
8		800 [3])	0,41	0,05	[3]) In 2 Dosen à 400 ccm.
9		400	0,72	0,18	
10		63	—	0,00	
11		126 [4])	—	0,00	[4]) In 2 Dosen à 63 ccm.
13		400	0,71	0,18	
15		800 [5])	0,48	0,06	[5]) In 2 Dosen à 400 ccm.
16		400	0,40	0,10	
12	4	63	0,12	0,19	
14		126 [6])	0,13	0,10	[6]) In 2 Dosen à 63 ccm.
17	*)	—	—	—	Kontrollversuch: Milch bei alkoholfr. Regime.

Tabelle VI.
Alhoholgehalt in 1 l Milch, bezogen auf die Tageszufuhr.

Vers. Nr.	Kuh Nr.	Alkoholzufuhr pro Tag ccm	In 1 l Milch ccm	Von dem verabreichten Alkohol in 1 l Milch erschienen %	Bemerkungen
1	1	200	0,09	0,04	
2		400	0,42	0,07	
3		400	0,18	0,04	
4		400 [1])	0,17	0,04	[1]) In 2 Dos. à 200 ccm.
5		400	0,25	0,06	
6		400	0,17	0,04	
7		400 [2])	0,03	0,008	[2]) In 2 Dos. à 200 ccm.
8		800 [3])	0,05	0,006	[3]) In 2 Dos. à 400 ccm.
9		400	0,11	0,03	
10		63	0,00	0,00	
11		126 [4])	0,00	0,00	[4]) In 2 Dos. à 63 ccm.
13		400	0,11	0,03	
15		800 [5])	0,07	0,009	[5]) In 2 Dos. à 400 ccm.
16		400	0,06	0,015	
12	4	63	0,02	0,032	
14		126 [6])	0,02	0,016	[6]) In 2 Dos. à 63 ccm.
12a	*)	—	0,00	0,00	Kontrollvers.: Milch von alkoholfreiem Regime.

*) 5 verschiedene Kühe bei alkoholfreiem Regime.

Schließlich hatten wir noch Gelegenheit, Milch einer stillenden Frau auf Alkohol zu untersuchen. Herr Frauenarzt Dr. F. Heinsius-Schöneberg bei Berlin hatte die Liebenswürdigkeit, Milch von einer Wöchnerin seiner Klinik zur Verfügung zu stellen. Die betreffende Wöchnerin hatte seit 14 Tagen keinen Alkohol genossen; sie erhielt am Versuchstage in einer Dosis 60 ccm Kognak mit 24,24 ccm Alkohol. Nach 3 Stunden entnahm Dr. Heinsius eine Milchprobe von 46 g und schickte dieselbe sofort durch Boten an unser Laboratorium. Wir fanden in den 46 g Milch 0,011 ccm = 0,009 g Alkohol absol., bzw. 0,045 % der Zufuhr. Wenn wir diese Alhoholmenge auf 1 kg Milch umrechnen, so würden dafür 0,196 g Alkohol absol. anzunehmen sein. In Wirklichkeit ist dieser Wert natürlich deshalb zu hoch, weil ca. 3 Stunden nach dem Alkoholgenuß (siehe auch Kuh Nr. 1, Versuch Nr. 6, Anmerkung) der Alkoholgehalt der Milch am höchsten ist; somit wäre jedenfalls der in der gesamten von der Frau pro die sezernierten Milch, bezogen auf 1 kg, erscheinende Alkohol wesentlich niedriger anzunehmen, als sich aus dieser Berechnung ergibt.

Unsere Tierversuche berechtigen übrigens zu dem Schluß, daß auch bei der Frau nach kurzer Gewöhnungszeit an Alkohol überhaupt keine in Betracht kommenden Quantitäten in die Milch übergehen.

Aus den vorstehenden Tabellen geht hervor, daß von den zugeführten Alkoholgaben nur ein recht geringer Teil in der Milch erscheint. Nach unseren Versuchen schwanken die in einer Tagesmilch von 5,9 bis 7,4 kg enthaltenen Alkoholmengen zwischen 0 und 1,6 ccm. Nur beim Versuch 2 steigt die in der Milch enthaltene Alkoholmenge nach der Zufuhr von 400 ccm absoluten Alkohols in einer Dosis bei noch unvollkommener Gewöhnung auf insgesamt 2,6 ccm an. Immerhin zeigt sich hieraus schon deutlich der die an sich geringe Alkoholausscheidung in den ersten Versuchstagen binnen kurzer Zeit noch weiter herabmindernde Einfluß der Gewöhnung. Derselbe ist bereits am 4. Tage nach Beginn des Versuchs (Versuch 2) deutlich. Er geht in der Folge so weit, daß er die in Versuch 8 auf das Vierfache der ersten Tagesgabe gesteigerte Tagesalkoholzufuhr in der Ausscheidung überkompensiert. Zu bemerken ist noch, daß die verabreichten Versuchsgaben das 5 bis 20 fache

der in der Praxis vereinzelt und nur bei Betriebsstörungen an die Kühe verabreichten Mengen betrugen.

Eine Zufuhr von 800 ccm Alkohol absol. in 2 Dosen pro Kuh und Tag (Versuche Nr. 8 und 15) ist als exorbitant hoch zu bezeichnen. Trotzdem war schon bei dem vorliegenden kurzfristigen Gewöhnungsstadium, wie erwähnt, auch in diesem Falle nur 0,4 bis 0,5 ccm Alkohol, entsprechend 0,06 bis 0,09 % der Zufuhr in der Tagesmilch enthalten.

Fassen wir nun die gesamten Resultate zusammen, inbegriffen diejenigen an dem an Alkohol noch nicht gewöhnten Tier, so finden wir, daß im Mittel von 16 Versuchen aus einer gesamten Zufuhr von 5,8 l absoluten Alkohols 11,05 ccm, entsprechend 0,19 %, in einer gesamten Milchmenge von 107,5 kg nachgewiesen worden sind; das sind 0,0817 g Alkohol in 1 kg Milch. In dieser hochgegriffenen Zahl sind die sämtlichen ermolkenen Milchmengen auf die Gesamtzufuhr an Alkohol bezogen, und die relativ hohe Alkoholausscheidung in den wenigen Tagen der noch nicht erfolgten Gewöhnung ist uneingeschränkt inbegriffen. Will man diese Ergebnisse auf ihre praktische Bedeutung prüfen, so müssen natürlich die Mengen des durch die Milchdrüse ausgeschiedenen Alkohols in Rechnung gestellt werden, die z. B. ein Säugling mit seiner Milch erhält, also die in 1 bis $1^1/_2$ l enthaltenen; ferner ist, wenn von einem chronischen Zustand solcher Alkoholzufuhr für den Säugling die Rede sein soll, der nach erfolgter Gewöhnung der Frauen bzw. der Milchtiere erscheinende Alkoholgehalt der Milch zugrunde zu legen.

Nun lehrt ein Blick auf die Tabelle V, daß selbst nach Dosen von 400 ccm in einer Dosis bzw. 800 ccm absoluten Alkohols pro Kuh in 2 Dosen, entsprechend 0,8 bzw. 1,6 ccm Alkohol pro Körperkilo, bei der Kuh nur 0,05 bis 0,4 % der Zufuhr in die Milch übergegangen sind, das wäre also pro 1 l Milch 0,06 bis 0,24 ccm. Wie schon gesagt, gelten im übrigen auch diese geringen Mengen für eine Alkoholzufuhr, wie sie in der Praxis wohl nie in Frage kommen können.

In der Milch von Kühen, die Schlempe mit dem in der Praxis überhaupt nur noch, und zwar sehr selten in Betracht kommenden Akoholgehalt von 0,1 bis 0,3 % in den üblichen Mengen verzehren, kann demnach der

Säugling zumeist gar keinen, höchstens einige Milligramm Alkohol täglich aufnehmen, die natürlich als absolut indifferent anzusehen sind.

Auch die Frauenmilch enthält nach mäßigem Alkoholgenuß nur minimale Quantitäten Alkohol. Gegenteilige Behauptungen und die Befürchtung, daß Säuglinge durch die Milch von Frauen oder Tieren, die mäßige Quantitäten Alkohol genießen, geschädigt werden könnten, finden in unseren Untersuchungen keine Stütze.

Über die Wirkung des Pituitrins und β-Imidazoläthylamins (Histamins) auf die Herzaktion.

Versuche am isolierten Frosch- und Säugetierherzen.

Von

W. Einis.

(Aus der medizinischen Poliklinik zu Freiburg i. B.)

(Eingegangen am 8. Mai 1913.)

Mit 8 Figuren im Text.

1. Einleitung.

Die Anwendung des Pituitrins in der geburtshilflichen Praxis und die damit erzielten Erfolge haben in den weitesten Kreisen großes Interesse erweckt. Aber erst in der letzten Zeit sind einige interessante und wertvolle Publikationen erschienen, die über das Gebiet der reinen Empirie hinausgehen und sich mit den Ergebnissen der experimentellen Erforschung des Wirkungsmechanismus des Pituitrins auf den Zirkulationsapparat befassen.

Die Wirkung des Pituitrins auf die glatte Muskulatur ist längst bekannt. Ebenso weiß man, daß das Pituitrin den Blutdruck in mäßigem Grade erhöht. Betreffs des Mechanismus dieser Blutdruckerhöhung ist eine vollständige Einigkeit noch nicht erzielt worden, insofern, als es sich aus den bisherigen Beobachtungen nicht mit Sicherheit ersehen läßt, wie weit Herzwirkung, wie weit Wirkungen auf das Gefäßsystem für die cardiovasculären Veränderungen nach Pituitrininjektionen in Betracht kommen.

Pankow ist bei Blutdruckversuchen am Kaninchen zu der Überzeugung gekommen, daß „der als erste Folge der Injektion eintretende rasche Abfall des Blutdruckes Folge einer Herzwirkung ist, denn er erfolgt unter Herzstillstand bzw. stärkster Herzverlangsamung“[1]).

---

[1]) Arch. f. d. ges. Physiol. 147.

Es ist bekannt, daß der normale Herzrhythmus unter Pituitrinwirkung gewisse Veränderungen erleidet. So nimmt z. B. de Boni[1]) an, daß die Herztätigkeit beim Frosch unter Pituitrinwirkung verlangsamt und verstärkt wird. Rabe[2]) hat aber bei Versuchen am isolierten Katzenherzen eine Verstärkung der Herztätigkeit unter Ansteigen der Pulszahl beobachtet.

Da Rabe seine Untersuchungen am isolierten Herzen zu anderen Zwecken ausführte, um nämlich die Durchströmung der Coronargefäße unter Pituitrinwirkung zu prüfen, und da er die Wirkung auf die Herztätigkeit nur nebenbei erwähnt, schien es uns erwünscht, ähnliche Untersuchungen im möglichst ausgedehnten Umfange am isolierten Frosch- wie Warmblüterherzen durchzuführen.

Im Anschluß an die Arbeit von Fühner[3]) haben wir versucht, auch die Wirkung des β-Imidazoläthylamin in gleicher Weise zu prüfen und die Ergebnisse der beiden Versuchsreihen zu vergleichen. Nach Fühner soll nämlich β-Imidazoläthylamin eine dem Pituitrin ähnliche Wirkung auf die Herzaktion ausüben.

Unsere Versuche beschäftigen sich hauptsächlich mit der Prüfung der Frequenz der Herztätigkeit unter Pituitrindarreichung. Daneben haben wir auch versucht, ein Maß für die Größe der systolischen Zusammenziehungen zu erhalten.

Über das Wesen der Pituitrinwirkung auf das Herz ist noch nichts Näheres bekannt.

Es wird nämlich behauptet, daß die Pituitrinwirkung eine Vaguswirkung ist (Cyon). Aber Pankow konnte diese Annahme, soweit sie sich auf die Blutdrucksteigerung bezieht, bereits widerlegen; denn nach Durchschneidung beider Vagi erhielt er genau dieselbe Pituitrinkurve wie vorher. Da er aber die Blutdrucksteigerung als Folge einer Herzwirkung ansieht, so ist dabei wahrscheinlich das Herz auf andere Weise beeinflußt worden. Es liegt nach Pankow der Gedanke nahe, daß diese Wirkung eine „direkte Herzwirkung" ist. Das würde gut mit den von Houssay[4]) für die isolierten Organe mit glatter Muskulatur erhaltenen Resultaten übereinstimmen, der die Wirkung des Pituitrins auch als direkt peripher betrachtet. Und gerade aus diesem Grunde scheinen uns Versuche am isolierten Herzen von großer Wichtigkeit zu sein, weil wir bei dieser Versuchsanordnung die obenerwähnte Wirkungsmöglichkeit (Vaguswirkung) von vornherein ausschalten.

2. Pituitrinwirkung am isolierten Froschherzen.

Als Hypophysenextrakt benutzen wir stets das Pituitrin von Parke Davis & Co.

[1]) Folia serologica 7, H. 3, 1911.

[2]) Zeitschr. f. experim. Pathol. u. Ther. 11, H. 2.

[3]) Münch. med. Wochenschr. 1912, Nr. 16.

[4]) Houssay, La presse medicale 1912, Nr. 37.

Die Versuchsanordnung am Froschherzen ist von Fühner[1]) beschrieben worden. Wir dürfen uns deswegen, was die technische Seite anbetrifft, kurz fassen. Das Froschherz mit eingebundener Kanüle nach Straub wird in eine feuchte Kammer gebracht. Die Registrierung der Herztätigkeit erfolgt nach der Suspensionsmethode auf der Mareyschen Trommel. Die Kanüle ist bis zu einem Drittel mit Ringer-Lösung gefüllt. Durch die Ringer-Lösung perlt fortwährend Sauerstoff. Die Straubsche Kanüle erlaubt uns, mit annähernd konstantem Druck zu arbeiten. Wir benutzen tropfenweise das zehnfach verdünnte Pituitrin (0,1 Pituitrin zu 0,9 Ringer).

Die Beimengung von Chloreton (tertiärer Trichlorbutylalkohol, ein Kondensationsprodukt von Aceton und Chloroform) zum Pituitrin von Parke Davis & Co. ist bedeutungslos, denn reine Lösung von 0,5 $^0/_0$ Chloreton bleibt in dieser Verdünnung (1:10) unwirksam, wie einige Versuche zeigten. Es wurde die zehnfache Verdünnung gewählt, da bei den größeren Konzentrationen sofort die toxische Wirkung des Pituitrins auf das Herz bemerkbar wurde. Wir fingen mit ganz geringen Dosen an, um die untere Grenze der noch wirkenden Mengen zu bestimmen.

Zunächst konnten wir feststellen, daß auf eine einmalige Einführung eines Tropfens verdünnter Lösung (Pituitrin 0,1, Ringer 0,9) das Herz entweder gar nicht oder mit einer geringen Frequenzsteigerung reagierte, daß dagegen mehrfache Wiederholungen der gleichen Dosis stets eine Herabsetzung der Frequenz zur Folge hatten; dabei ist zu bemerken, daß manchmal eine Angewöhnung des Herzens zu konstatieren war; denn öfters blieb die Reaktion auf die zweitfolgende Einführung der gleich großen Dosis aus.

Ein gutes Beispiel der Frequenzherabsetzung durch Pituitrin zeigt die beiliegende Kurve Nr. 1, wo die Zahl der Contractionen in der Minute von 43 auf 34 sank, also Frequenzabnahme von ca. 20 $^0/_0$. Die Wirkung tritt meistens in 20 bis 30 Sekunden nach der Einführung ein und hält 3 bis 5 Minuten lang an, um dann dem anfänglichen Herzrhythmus Platz zu machen. Die Vergrößerung der Ausschläge ist sehr gering. Eine nennenswerte Verstärkung der Systolen ist also am gut schlagenden Froschherzen nach Darreichung von Pituitrin nicht nachweisbar.

---

[1]) Fühner, Nachweis der Gifte auf dem biologischen Wege. In Abderhalden, Biochem. Arbeitsmethoden IV.

Eine einmalige Einführung von 2 Tropfen der gleichen Lösung ruft eine etwas stärkere Herabsetzung der Frequenz hervor, während mehrmals wiederholte Einführung von mehr als 3 bis 7 Tropfen Pituitrinlösung das Herz zum Stillstand bringt.

Es ist interessant, festzustellen, auf welche Weise diese Frequenzverlangsamung zustande kommt. Manchmal zeigen die verlängerten Herzpausen einen direkten Übergang in mehr oder weniger lang dauernde Stillstände. Die letzteren traten öfters auch sofort nach der Injektion auf. Auch Gruppenbildungen kommen im Laufe der Pituitrinwirkung nicht selten vor. So konnten wir in einem Falle auf die wiederholte Einführung von 1 bis 3 Tropfen Pituitrinlösung Bigemini, Trigemini usf. beobachten. Dabei traten Stillstände, oder richtiger sehr lange Pausen sofort nach der Injektion auf, infolgedessen sank die Anfangsfrequenz fast auf die Hälfte herab.

Fig. 1 (Kurve Nr. 1, Frosch). Pituitrin 0,1 + Ringer 0,9 1 Tropfen.
Frequenz: vor 43
nach 34
Frequenzabnahme ca. 20%, geringe Steigerung der Contractionshöhe.

Ob diese Herabsetzung der Frequenz durch Hemmung der Reizleitung oder durch Hemmung der Reizbildung zustande kommt, können wir nicht sicher entscheiden. Am kräftig schlagenden Froschherzen konnten wir niemals eine Überleitungsstörung, auch nicht durch große Pituitrindosen, erzielen. Dagegen trat in zwei Fällen, beim schwachschlagenden Froschherzen eine Störung der Überleitung auf. Ob diese infolge der Pituitrinwirkung selbst aufgetreten ist, oder ob daran anderweitige Schädigungen des Reizleitungssystems schuld sind, läßt sich vorläufig nicht sicher entscheiden. In Säugetierversuchen

sahen wir auch niemals Überleitungsstörungen auftreten, die wir sicher der Wirkung des Präparates zuschreiben könnten.

Von 5 Tropfen ab zeigte das Pituitrin eine schädliche Beeinflussung der Herztätigkeit, da nach wiederholten Einführungen der genannten Dosen die Contractionen immer kleiner und kleiner wurden: es traten immer längere Pausen auf, und schließlich blieb das Herz diastolisch stillstehen.

Es ist noch zu bemerken, daß an einem schlecht schlagenden und geschädigten Herzen eine positive Beeinflussung der Contractionen im Sinne der Vergrößerung derselben und eine Verstärkung der Herztätigkeit, sowie eine Ausgleichung der durch die Schädigung hervorgerufenen Arhythmien deutlicher zutage trat. Das hat uns veranlaßt, die Wirkung des Präparates am absichtlich geschädigten Herzen zu prüfen. Es wurde versucht, ein stillstehendes Froschherz durch Pituitrin wieder in Gang zu bringen. Der Stillstand wurde in der Weise hervorgerufen, daß wir ein isoliertes Froschherz eine Zeitlang in einer feuchten Kammer mit eingebundener Kanüle, ohne Sauerstoffzufuhr, schlagen ließen. Nach 1 Stunde trat vollständiger Stillstand ein; Sauerstoffzufuhr brachte das Herz nicht mehr zum Schlagen. Auch mechanische Reize waren nur noch von sehr schwacher Wirkung. Nur sehr intensive Reize konnten höchstens eine schwache Contraction hervorbringen. Nun versuchten wir, die Herzaktion mit Pituitrin wieder auszulösen. Auf die zweimalige Einführung von je 1 Tropfen verdünnter Pituitrinlösung antwortete das Herz mit einer Gruppe von rasch aufeinander folgenden Contractionen (Kurve Nr. 2). Dann trat wieder ein länger dauernder Stillstand ein, in dem die Einführung von Pituitrin wiederholt wurde. Auf die zweite Einführung des Präparates reagierte das Herz genau so wie auf die erste. Es konnte diese Wirkung noch in einer Reihe von Versuchen beobachtet werden.

Auf Grund dieser Versuche können wir folgendes sagen:

Das Pituitrin besitzt schon in kleinen Konzentrationen eine charakteristische Wirkung auf das isolierte Froschherz, die sich besonders markant und deutlich am geschädigten Herzen nachweisen läßt. Diese Beobachtungen bestätigen die Versuche von V. de Boni[1]).

[1]) l. c.

Wir fassen die Versuchsergebnisse zusammen: Eine einmalige Einführung eines Tropfens einer zehnfach verdünnten Lösung des Pituitrins Parke Davis & Co. beeinflußt die Herztätigkeit nur wenig. Dagegen wurde bei wiederholten Einführungen oder bei größeren Dosen eine beträchtliche Herabsetzung der Frequenz und eine Vergrößerung der Ausschläge um 10% konstatiert. Dabei ist noch zu bemerken, daß öfters sofort nach der Injektion ein mehr oder weniger langdauernder Stillstand eintrat. Eine Angewöhnung des Froschherzens an das Pituitrin wird nur ab und zu beobachtet.

Das stillstehende Froschherz kann durch Pituitrin vorübergehend wieder zum Schlagen gebracht werden, auch wenn Sauerstoffzufuhr und mechanische Reize es nicht mehr vermögen.

Fig. 2 (Kurve Nr. 2, Frosch). Wiedereinsetzen der Herzaktion nach Stillstand durch Sauerstoffmangel mit einer Frequenz von 27; plötzlicher Sprung auf 54, dann sprungweise wieder 27. Hierauf Stillstand.
Pituitrin 0,1 + Ringer 0,9 2mal 1 Tropfen.

3. Die Wirkung des β-Imidazoläthylamin auf das isolierte Froschherz.

Die Technik bei diesen Experimenten war dieselbe wie in der vorhergehenden Reihe. Wir benutzten ein Präparat, das wir der Liebenswürdigkeit von Prof. Windaus verdanken. Um die wirksame Konzentration des β-Imidazoläthylamins zu bestimmen, wurden verschiedene Verdünnungen hergestellt, und zwar 1. 1:1000; 2. 1:10000; 3. 1: 100000. Wir benutzten diese Lösungen stets tropfenweise. Schon nach Einführung von β-Imidazoläthylamin in einer Konzentration von 1:100000 konnte eine geringe Herabsetzung der Frequenz beobachtet werden Bei größeren Dosen wurde eine etwas stärker ausgeprägte Ver-

langsamung der Frequenz festgestellt. Die Größe der Contractionen blieb dabei unverändert. Die Wirkung trat ungefähr in 40 bis 50 Sekunden nach Einführung des β-Imidazoläthylamins ein und hielt manchmal sehr lange an. Nach wiederholten Einführungen von β-Imidazoläthylamin in einer Konzentration von 1:10000 und 1:1000 kam es stets zu periodischen Stillständen des Herzens und Gruppenbildungen. Diese Gruppen zeigen bisweilen die Eigentümlichkeit, daß die Systolen allmählich an Größe zunehmen, und daß mit der Vergrößerung der Contractionen die Frequenz des Herzens bisweilen rasch zunimmt.

Ähnliche Gruppenbildungen sind auch bei anderweitigen Herzschädigungen beschrieben worden (Lucianische Gruppen[1]).

Jede Gruppe besteht aus 8 bis 10 Contractionen. Die sehr schnell erfolgende Diastole bedingt das Auftreten von Schleuderkurven. Es scheint, als ob die diastolische Erschlaffung der Herzmuskulatur vollständiger wäre und die Diastole etwas schneller erfolgte als im Anfange. Am deutlichsten treten diese Phänomene in der Kurve Nr. 3 zutage.

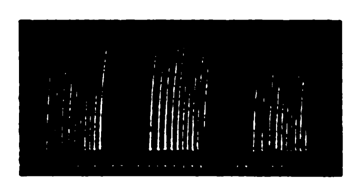


Fig. 3 (Kurve Nr. 3, Frosch). β-Imidazoläthylamin 1:10000 1 Tropfen. Charakterist. Gruppenbildung.

Von dem Vorhergesagten ausgehend, können wir die β-Imidazoläthylaminwirkung auf das isolierte Froschherz folgendermaßen definieren:

Die niedrigen Konzentrationen (1:100000) des genannten Präparates rufen eine Herabsetzung der Frequenz und eine sehr geringe Verstärkung der Contractionen hervor. Höhere Konzentrationen (von 1:10000 ab) bedingen periodische Herzstillstände und Gruppenbildung. Die Diastole wird in dem Sinne beeinflußt, daß sie rascher erfolgt.

4. Pituitrinwirkung am isolierten Säugetierherzen.

Es wurden zwei Serien von Versuchen angestellt. Für die erste Versuchsreihe diente ein Langendorffscher Apparat (Modifikation von W. Trendelenburg). Zur Speisung des Herzens wurde stets Ringer-Lösung benutzt.

[1]) Frank, Zeitschr. f. Biol. 35, 978, 1897 oder 38, 300, 1900.

Für die zweite Versuchsreihe benutzten wir eine Vereinfachung des Langendorffschen Apparates, der in der hiesigen Poliklinik gebraucht wird. Im Prinzip sind beide Apparate gleich. Nur ist die Handhabung des letzteren einfacher und bequemer. Auch ist man von Druckschwankungen weniger abhängig und kann mit viel geringeren Mengen Durchströmungsflüssigkeit arbeiten.

Bei den Versuchen der zweiten Serie haben wir zur Speisung des Herzens mit Hirudin ungerinnbar gemachtes Blut verwendet, indem wir dem Versuchstiere vor der Entnahme des Blutes in die V. jugularis 0,1 g Hirudin injizierten.

Im übrigen ist die Technik der beiden Versuchsreihen vollständig gleich. In der ersten Serie benutzten wir Katzen- und Kaninchenherzen, in der zweiten ausschließlich Kaninchenherzen.

a) Serie I. Speisung des Herzens mit Ringer-Lösung.

Das Herz wurde mit Ringer-Lösung ohne Zusatz von defibriniertem Blut gespeist. In einigen Versuchen haben wir nach dem Zusatz des Blutes stets eine mehr oder weniger erhebliche Beeinträchtigung der Herzaktion konstatiert. Für Temperaturkonstanz und Druckausgleich während des Versuches wurde gesorgt.

Wir fingen wiederum mit Pituitrin an und benutzten das gleiche Präparat von Parke Davis & Co. in Ampullen zu 0,5 und 1,0 ccm.

Nachdem eine gewisse konstante Temperatur von 37° bis 40° erreicht war, injizierten wir in den Verbindungsschlauch zwischen dem Herzen und dem zur künstlichen Speisung dienenden System eine bestimmte Quantität von unverdünntem Pituitrin. Zuerst spritzten wir auf einmal eine ganze Ampulle, d. h. 0,5 ccm, ein. Unmittelbar nach der Injektion nahm die Höhe der Contractionen sehr schnell ab, um sich dann wieder allmählich der Ausgangsgröße zu nähern und diese sogar zu überschreiten.

Kaninchen- und Katzenherzen verhalten sich in dieser Beziehung etwas verschieden. Die Wirkung des Pituitrins auf das überlebende Katzenherz ist am besten aus der Tabelle I zu ersehen.

Tabelle I.

Katze.

Pituitrin 0,5 ccm. Druck 110 bis 100 mm Hg. Temp. 35 bis 34°.

Nach Sekunden	Frequenz in 1 Minute		Contractionshöhe		Bemerkungen
	Vorhof	Kammer	Vorhof mm	Kammer mm	
	78	78	0,8	0,2	
			Injektion		
42	60	60	0,3	?	Viel kleiner, schwer meßbar
65	78	78	0,5	0,1?	
119	90	90	1,0	0,7	
185	96	96	0,8	1,0	

Erst tritt eine Herabsetzung der Frequenz ein mit parallelgehender Verkleinerung der Ausschläge, dann steigt die Zahl der Contractionen in der Minute beträchtlich; ebenso nehmen die Ausschläge an Größe zu. In 3 oder 4 Versuchen wird die Anfangsgröße überschritten. Zum Schluß bleibt eine beträchtliche Frequenzsteigerung und geringe Erhöhung der Ausschläge bestehen.

Im ganzen ist die Wirkung des Pituitrins auf das Katzenherz etwas intensiver als auf das Kaninchenherz (Ringerspeisung). So beträgt die Zunahme der Contractionen in der Minute bei der Katze ca. 16 bis 18; beim Kaninchen dagegen beträgt die Zunahme selten mehr als 10 in der Minute.

Je kleiner die Dosen waren, desto geringer wurde die Abflachung der Kurve unmittelbar nach der Injektion, und umgekehrt. Je größer die Dosen waren, desto stärker war auch die Abflachung der Kurve. Die Contractionen waren nicht mehr meßbar. Die Wirkung von größeren Dosen als 0,1 ccm unterscheidet sich nicht von der oben beschriebenen. Nur von 0,5 ccm ab wird eine schädliche Beeinflussung der Herztätigkeit bemerkbar, und auch dann nur bei mehrfach wiederholten Injektionen. Dabei ist das Kaninchenherz empfindlicher als das der Katze.

Bei einmaliger Injektion wird sogar die Menge von 1 ccm gut vertragen. Die Beeinträchtigung der Herzaktion besteht im Auftreten von mehr oder weniger langdauernden Stillständen und in Verkleinerung der Contractionshöhe. Die dabei beobachtete Herabsetzung der Frequenz ist als Schädigung der

Herzaktion zu betrachten; die Contractionen werden dabei schwächer und schwächer. Das Herz erholt sich selten wieder.

Pituitrin wirkt also auf das isolierte Säugetierherz (Kaninchen, Katze) in dem Sinne, daß es eine Frequenzsteigerung herbeiführt — am ausgesprochensten bei der Katze — und die Herztätigkeit verstärkt. Die Systolen werden kräftiger.

Wir möchten noch hervorheben, daß die stimulierende Wirkung des Präparates am geschädigten Herzen deutlicher zutage tritt. So konnten wir ein sehr schlecht schlagendes Kaninchenherz mit 0,5 ccm wieder, wenn auch nur vorübergehend, zu einer besseren Aktion bringen.

Es sei an dieser Stelle erwähnt, daß die Chloretonbeimengung zu dem Pituitrin von Parke Davis & Co. uns veranlaßte, einige Kontrollversuche anzustellen, um die Wirkung einer $^1/_2$ $^0/_0$igen Lösung von Chloreton (Trichlorbutylalkohol) auf die Herzaktion genauer zu prüfen. Es stellte sich dabei folgendes heraus:

Wiederholte Injektionen von 0,5 ccm einer $^1/_2$ $^0/_0$igen Lösung von Chloreton beeinflussen nur die Größe der Contractionen im negativen Sinne, dabei lassen sie die ursprüngliche Herzfrequenz, abgesehen von der im Anfang der Kurve während der Verkleinerung der Ausschläge vorkommenden minimalen Steigerung der Frequenz, vollständig unverändert. Nur nach wiederholter Einspritzung von sehr großen Dosen, die in den mit Pituitrin ausgeführten Versuchen nicht in Betracht kommen, wurde eine Verlangsamung der Herztätigkeit mit Stillständen konstatiert. Die für Pituitrin typische Frequenzsteigerung konnte in den Choretonversuchen nie in der gleichen Form beobachtet werden. Ebenso fehlte bei Chloreton jede Vergrößerung der Ausschläge.

b) Serie II. Speisung des Herzens mit Hirudinblut.

In den Versuchen dieser Serie, bei denen das Herz im allgemeinen viel kräftiger schlug als bei den Versuchen mit Ringer-Lösung, treten die schon oben angedeuteten Hauptmomente der Pituitrinwirkung noch deutlicher zutage. Die Frequenzschwankungen werden etwas größer, aber die Art der Wirkung bleibt prinzipiell unverändert. Ebenso wie vorher kommt es ungefähr 3 bis 4 Sekunden nach der Injektion zu

einer fortschreitenden Verkleinerung der Systolen. Nur die Abnahme der Frequenz wird viel ausgeprägter. Dann, wenn eine gewisse Herabsetzung der Frequenz erreicht ist, steigt diese wieder. Ihr parallel vergrößern sich allmählich auch die Contractionen. Dabei aber ist die Vergrößerung der Contractionen in den Kurven dieser Serie viel stärker ausgeprägt; so z. B. in der Kurve Nr. 4, Serie II. Die Zunahme der Frequenz beträgt hier 12,5 %, die Zunahme der Contractionshöhe 50 %, was eine recht intensive Wirkung bedeutet. Somit tritt bei den Versuchen der zweiten Serie die stimulierende Wirkung des Präparates noch deutlicher zutage. Die Dosen blieben dieselben wie in Serie I (0,5 bis 1,0 ccm). Auch in dieser Versuchsreihe bemühten wir uns

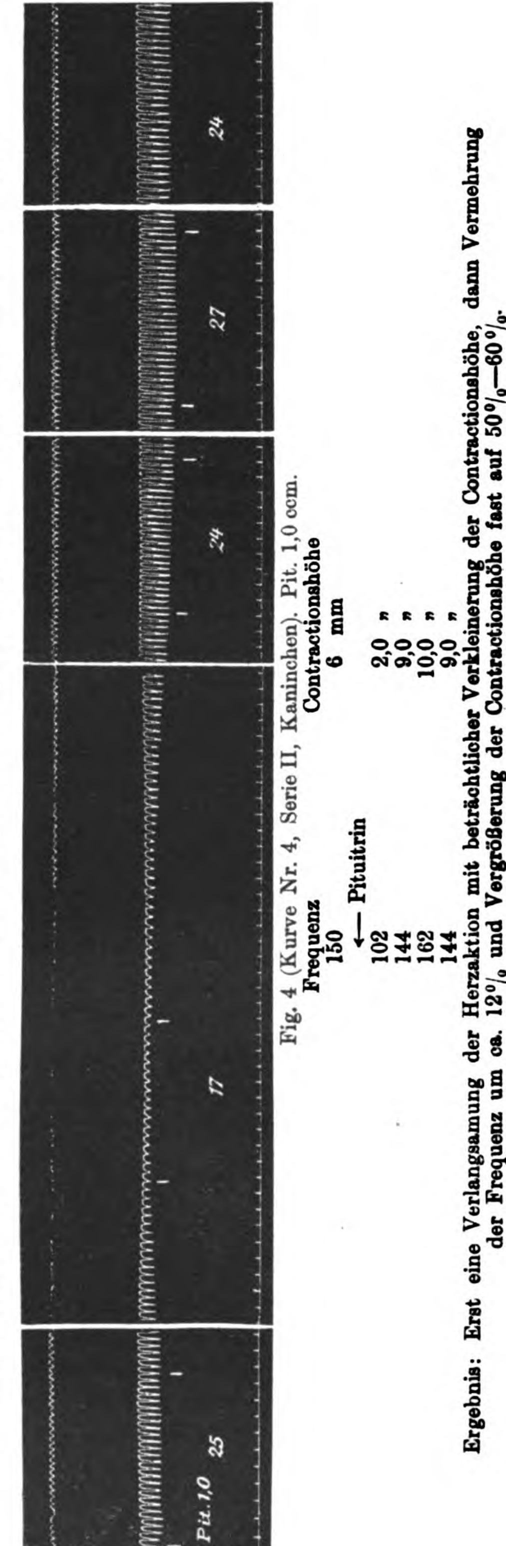


Fig. 4 (Kurve Nr. 4, Serie II, Kaninchen). Pit. 1,0 ccm.

Frequenz	Contractionshöhe
150	6 mm
⟵ Pituitrin	
102	2,0 „
144	9,0 „
162	10,0 „
144	9,0 „

Ergebnis: Erst eine Verlangsamung der Herzaktion mit beträchtlicher Verkleinerung der Contractionshöhe, dann Vermehrung der Frequenz um ca. 12 % und Vergrößerung der Contractionshöhe fast auf 50 %—60 %.

festzustellen, wie weit eine Chloretonwirkung in Betracht kommt, indem wir noch einige Chloretonkurven aufnahmen und sie mit Pituitrin Parke Davis & Co., d. h. mit Pituitrin selbst + Chloretonkurven, verglichen.

Es stellte sich dabei folgendes heraus: Die anfängliche Herabsetzung der Frequenz und Verkleinerung der Contractionshöhen sind beiden Kurven gemeinsam. Dann aber tritt sofort fast in allen Chloretonkurven eine Rückkehr zur Norm ein. In allen Pituitrinkurven dagegen beginnt erst jetzt die wichtigste Veränderung, die in beträchtlicher Steigerung der Frequenz und Vergrößerung der Contractionen besteht. Vielleicht wird es klarer, wenn wir das in folgendes Schema unterbringen:

Pituitrin + Chloreton 0,5 %.

1. Herabsetzung der Frequenz.
2. Verkleinerung der Contractionshöhen.
3.* Steigerung der Frequenz über die Norm.
4.* Vergrößerung der Contractionshöhen über die Norm.
5. Rückkehr zur Norm.

Chloreton 0,5 %.

1. Herabsetzung der Frequenz.
2. Verkleinerung der Contractionshöhen.
3. Rückkehr zur Norm.

Für das Pituitrin selbst ohne Chloreton scheint also charakteristisch zu sein:

3.* Steigerung der Frequenz über die Norm.
4.* Vergrößerung der Contractionshöhen über die Norm.

Somit können wir die anfängliche Abflachung der Kurve in den Pituitrinversuchen resp. die Herabsetzung der Frequenz und Verkleinerung der Contractionshöhen vielleicht als Folge der Chloretonwirkung ansehen, mit anderen Worten, wir können annehmen, daß die erste Hälfte der Kurve die Chloretonwirkung, die zweite die Pituitrinwirkung ist; dann müssen wir aber auch annehmen, daß der eigentlichen Pituitrinwirkung ein Latenzstadium vorausgeht, oder wir können uns vorstellen, daß der erste Teil der Kurve Ausdruck einer kombinierten Wirkung ist, und daß das Pituitrin allein außerdem Frequenzsteigerung und Vergrößerung der Ausschläge hervorruft.

Die Frequenzverlangsamung tritt in beiden Fällen durch Hemmung der Reizbildung auf. Überleitungsstörungen, die wir der Wirkung des Pituitrins zuschreiben könnten, haben wir nicht konstatiert.

Die Ergebnisse der beiden Versuchsreihen mit Pituitrin am isolierten Säugetierherzen können wir demnach so formulieren:

Nach einer vorübergehenden Herabsetzung der Frequenz und Verkleinerung der Contractionshöhen tritt eine sehr erhebliche Steigerung der Frequenz und Vergrößerung der Contractionshöhen auf. Dann Rückkehr zur Norm (s. Serie II, Nr. 4). Charakteristisch für Pituitrin selbst bleibt nur eine Steigerung der Frequenz und Vergrößerung resp. Verstärkung der Contractionen; denn eine anfängliche Herabsetzung und Verkleinerung (der Ausschläge) kann auch durch das dem Pituitrin beigegebene 0,5 % Chloreton hervorgerufen werden.

5. β-Imidazoläthylaminwirkung am isolierten Kaninchenherzen.

a) Serie I. Versuche mit Ringer-Lösung.

Injektion von β-Imidazoläthylamin wird stets mit einer sehr starken Reaktion von seiten des Herzens beantwortet. Die Wirkung tritt sofort ein, und schon in wenigen Sekunden wird das Maximum erreicht. Sie ist so mannigfaltig und interessant, daß wir die Versuchsresultate etwas genauer wiedergeben wollen.

Die Versuchsanordnung bleibt dieselbe wie in der vorigen Reihe. Um eine wirksame Dosis zu finden, fingen wir mit der geringsten Konzentration an (1 : 100 000). Irgendeine Veränderung der Herztätigkeit konnten wir dabei nicht konstatieren. Darauf wurden die Dosen erhöht. Es wurde die nächst größere Konzentration angewendet. Aber auch dabei trat die Wirkung nicht deutlich zutage. Wir versuchten dann mit der stärksten von uns angewandten Konzentration, nämlich 1 : 1000, eine Reaktion von seiten des Herzens auszulösen, und es gelang uns wiederholt, eine deutliche Veränderung zu beobachten. Die Lösungen waren stets frisch bereitet, so daß von irgendwelchen

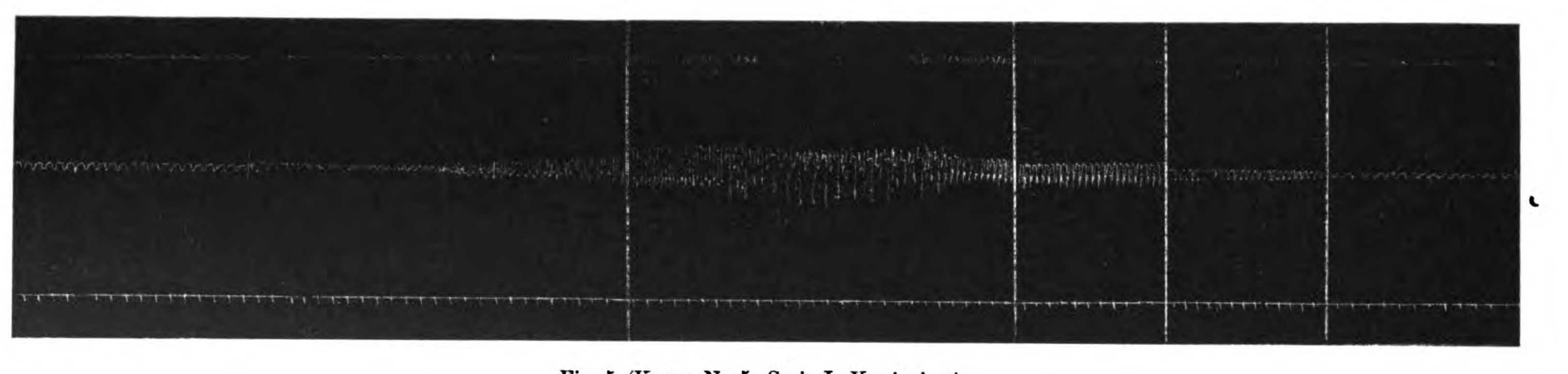


Fig. 5 (Kurve Nr. 5, Serie I, Kaninchen).

Imidazoläthylamin 1:1000 0,5 ccm. Druck 70 in mm Hg; t^0 38.

Frequenz	Contractionshöhe
80	2,0 mm
⟵ Injektion	
120	1,4 "
210	6,3 "
190	8,0 "
dann Block 1:2 und 1:3	
125	6,5 "
120	2,5 "
88	1,5 "

Frequenz: Vermehrung der Frequenz auf das Dreifache.

Contractionshöhe: Steigerung der Contractionshöhe ca. 4fach. Block. Rückkehr zu Werten, die nach der Norm liegen.

Nebenwirkungen keine Rede sein konnte. In jedem Versuche wurden stets erst die schwächeren Verdünnungen verwendet, aber nie war eine Wirkung festzustellen. Erst wenn wir 0,5 ccm einer 1 $^0/_{00}$igen Lösung von β-Imidazoläthylamin injizierten, konnten wir sofort eine sehr erhebliche Steigerung der Frequenz von 84 auf 102 und schließlich auf 204 Contractionen in der Minute konstatieren; also fast die dreifache Zahl der Norm (siehe Kurve Nr. 5). Entsprechend der Frequenzerhöhung sind auch die Contractionen bedeutend größer und stärker geworden. Aber diese Frequenzsteigerung war nur vorübergehend, nahm allmählich ab, um am Schlusse des Versuchs die ursprüngliche Zahl wieder zu erreichen. Bemerkenswert ist, daß auf der Höhe der Wirkung öfters Extrasystolen auftraten. Jede Extrasystole war dabei halb so groß wie die vorhergehende Systole. Zweimal konnten wir Ventrikelstillstand feststellen, während der Vorhof noch weiterschlug; allerdings ist diese Beobachtung nicht mit Sicherheit auf das β-Imidazoläthylamin zurückzuführen, denn es war schon am Ende des Versuchs, und es ist bekannt, daß in solchen Fällen eine Dissoziation auch spontan vorkommen kann. Immerhin denken wir, daß die obenerwähnte Störung durch größere Dosen des Präparats zustande gekommen ist. Im Verlaufe eines Versuchs konnten wir feststellen, daß eine Überleitungsstörung entstand, auf zwei Vorhofcontractionen folgte je eine Ventrikelcontraction. Schließlich versagte die Kammer vollständig, während der Vorhof weiterschlug.

Wir versuchten mit 0,2 ccm Adrenalin die Kammer wieder zum Schlagen zu bringen, aber vergebens. Auf die Injektion reagierte nur der Vorhof. Somit können wir annehmen, daß es sich um eine Schädigung der Reizleitung handelte.

Diese eben beschriebenen Wirkungen treten ein, wenn man 0,5 ccm einer 1 $^0/_{00}$igen Lösung von β-Imidazoäthylamin injiziert. Etwas kleinere Dosen, nämlich 0,25 ccm einer 1 $^0/_{00}$igen Lösung, bewirken eine Steigerung der Zahl der Contractionen in der Minute von 156 auf 282 mit der Schlußabnahme auf 114. Die Wirkung trat in 4 bis 5 Sekunden nach der Injektion ein.

β-Imidazoläthylamin bewirkt also am mit Ringer-Lösung gespeisten Herzen eine sehr starke vorübergehende Erhöhung der Frequenz mit nachfolgender

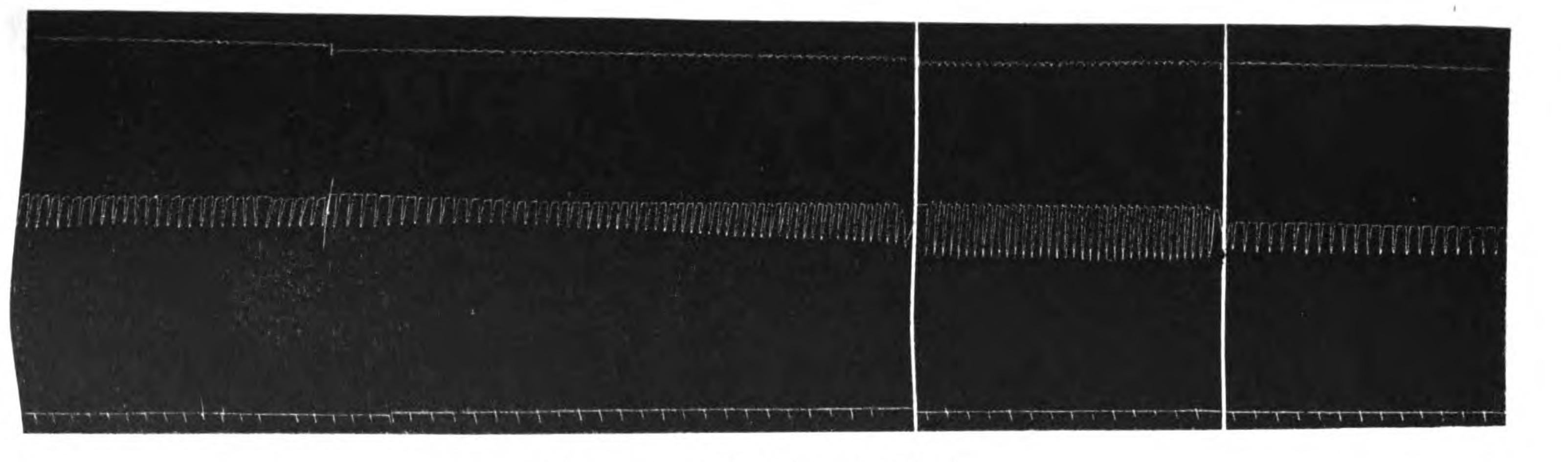


Fig. 6 (Kurve Nr. 6, Serie I, Kaninchen).

Imidazoläthylamin 0,25 1:1000. Druck 60 in mm Hg t^0 40.

Frequenz		Contractionshöhe
100		7,0 mm
←	Injektion	
150		8,0 „
160		11,5 „
100		5,0 „

Allmähliche Steigerung von Frequenz und Contractionshöhe.

Der Zunahme der Contractionshöhe geht eine geringe kurzdauernde Abnahme voran.

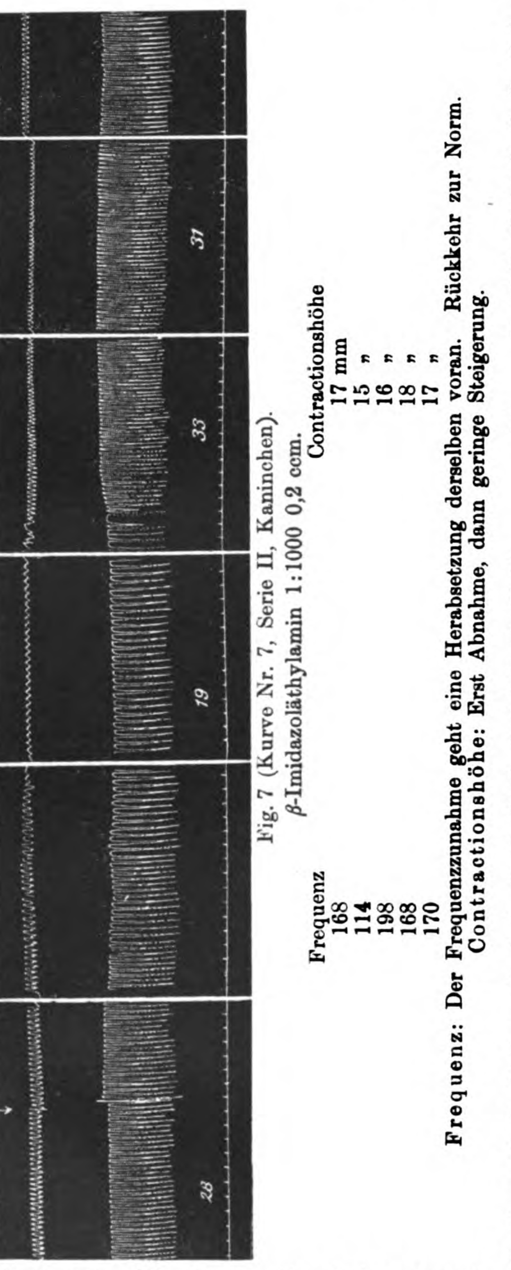


Fig. 7 (Kurve Nr. 7, Serie II, Kaninchen).
β-Imidazoläthylamin 1:1000 0,2 ccm.

Frequenz	Contractionshöhe
168	17 mm
114	15 „
198	16 „
168	18 „
170	17 „

Frequenz: Der Frequenzzunahme geht eine Herabsetzung derselben voran. Rückkehr zur Norm.
Contractionshöhe: Erst Abnahme, dann geringe Steigerung.

Abnahme der Contractionszahl und schließlich Herabsetzung der Frequenz (Kurve Nr. 6). Der Zunahme der Contractionshöhe geht eine geringe kurzdauernde Abnahme voraus.

b) Serie II. Durchblutung des Herzens mit Hirudinblut.

Wie aus der Kurve Nr. 7 Serie II ersichtlich ist, geht der typischen Steigerung der Frequenz nach Injektion von 0,2 ccm einer 1 $^0/_{00}$igen Lösung des β-Imidazoläthylamins eine bedeutende Herabsetzung voraus. Diese Abnahme der Frequenz beträgt ungefähr 32 $^0/_0$ (von 168 auf 114). Bald darauf geht die Zahl der Contractionen in der Minute wieder in die Höhe und erreicht 198, was eine Zunahme von ca. 20 $^0/_0$ gegenüber der Norm bedeutet. Die Contractionshöhe nimmt zu, aber lange nicht so stark wie in Serie I.

Nachdem wir mit den Versuchsergebnissen am isolierten Frosch- und Säugetierherzen bekannt geworden sind, ist es interessant, die Wirkung der beiden Präparate zu vergleichen. Wir haben schon gesagt, daß die einmalige Einführung von Imidazoläthylamin ($^1/_{10}$ bis $^1/_{100}$ %) bis zu 5 Tropfen auf einmal auf das Froschherz ähnlich wirkt wie kleine Dose Pituitrin in einer Konzentration von 1 : 10. Beide rufen stets eine Herabsetzung der Frequenz hervor.

Imidazoläthylamin ist noch dadurch charakterisiert, daß es nach wiederholten Einführungen höherer Dosen stets zu spezifischen Gruppenbildungen (Lucianische Gruppen) führt, die wir im Laufe der Pituitrinwirkung niemals gesehen haben. Eine gewisse Vergrößerung der Contractionshöhe ruft hauptsächlich Pituitrin hervor (Froschherz). Hieraus ergibt sich, daß nur die Herabsetzung der Frequenz eine für beide Präparate, soweit das Froschherz in Betracht kommt, gemeinsame Wirkungsform ist.

Die Versuche am Säugetierherzen zeigen folgendes: Bei Imidazoläthylamin in der Serie I (Ringer-Speisung) sind die Hauptzüge der Wirkung sehr bald nach der Injektion vollständig ausgeprägt. Die Wirkung tritt prompt ein und hält ziemlich lange an. Aus der ganzen Summe von Erscheinungen möchten wir zwei Punkte herausgreifen:

1. die sehr starke Erhöhung der Frequenz, viel stärker wie bei Pituitrin, manchmal Steigerung bis auf das Dreifache, mit sehr beträchtlicher Vergrößerung der Contractionshöhen.

2. Die schließliche Verlangsamung der Herztätigkeit, so daß die Zahl der Contractionen unter die Anfangsfrequenz sinkt. Man muß aber zugeben, daß diese Verlangsamung der Herztätigkeit auch als unmittelbare Folge der sehr intensiven Frequenzsteigerung angesehen werden kann, mit anderen Worten, man kann die erwähnte Verlangsamung der Herzaktion auch als Erschöpfungsphänomen betrachten. Um so mehr, als in der zweiten Serie (Hirudinblutspeisung) jene die Frequenzsteigerung ablösende Herzverlangsamung fehlt, da die Frequenz viel weniger steigt. Daher bleibt die Erhöhung der Contractionszahl, die in den beiden Versuchsserien gemeinsam auftritt, als das wichtigste Moment der β-Imidazoläthylaminwirkung bestehen. Was die Vergrößerung des Ausschläge anbetrifft, so

ist letztere, angesichts der sehr großen Frequenz und der dadurch hervorgerufenen Schleuderung, nur als Zeichen der Vergrößerung der Systolen und nicht als quantitatives Maß einer solchen anzusehen. Das wird auch durch die Versuche der zweiten Serie, wo die Frequenzsteigerung viel kleiner ist, bestätigt. Die stärkste Vergrößerung der Ausschläge ist auf der Höhe der Frequenzsteigerung zu beobachten, nachher nehmen jene allmählich ab, um schließlich die Anfangsgrößen der Contractionen nur wenig zu überschreiten. Im Gegensatz zu den letzteren Kurven zeigen die des Pituitrins immer eine schwächere Wirkung (Kurve 8). Die Frequenzsteigerung überschreitet niemals 10 Contractionen in der Minute, die Ausschläge werden erst viel kleiner (Abflachung der Kurve), um dann ganz allmählich sich wieder zu vergrößern. Im Verlaufe der Pituitrinversuche konnten wir niemals Überleitungsstörungen konstatieren, die wir beim β-Imidazoläthylamin gelegentlich sahen. Auf größere Dosen hin schlug das Herz immer schwächer und schwächer und versagte vollständig.

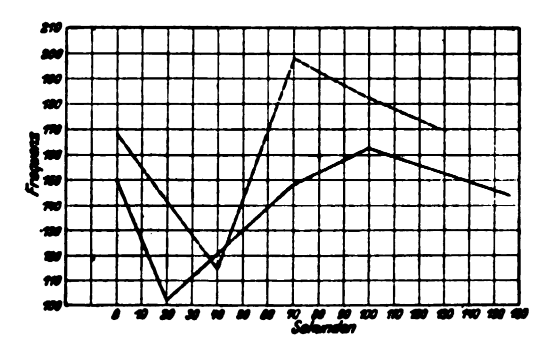


Fig. 8 (Kurve Nr. 8, Serie II, Kaninchen).

Schema der Wirkung des Pituitrins und β-Imidazoläthylamins.

——— Pituitrin 1,0 ccm zu Kurve Nr. 4.

- - - - β-Imidazoläthylamin 0,1 °/₀ 0,2 ccm zu Kurve Nr. 7.

Van den Velden[1]) sieht im Pituitrin einen schwachen Adrenalinkörper in funktionellem Sinne. Wir können dieser Annahme, soweit das isolierte Herz in Betracht kommt, teilweise beistimmen. Beide Präparate beschleunigen die Frequenz des Herzens. Beim Adrenalin tritt aber eine viel intensivere

[1]) Therap. Monatsh. Januar 1912.

Beschleunigung der Herzaktion ein, die fast unmittelbar nach der Injektion beginnt und sehr bald ihre Höhe erreicht. Die Wirkung klingt rascher ab als bei Pituitrin. Im Gegensatz dazu zeigt das Pituitrin erst eine Herabsetzung der Frequenz und Abflachung der Kurve, dann erst erfolgt eine Steigerung der Frequenz, die aber niemals den hohen Grad erreicht, wie es beim Adrenalin der Fall ist. Die Wirkung hält länger an.

Was die Beeinflussung des Blutdruckes durch Pituitrin anbetrifft, so stimmen die Angaben verschiedener Autoren meist überein. H. Dahle und Laidlauer[1]) haben bei der intravenösen Injektion am Kaninchen und Meerschweinchen eine Blutdrucksteigerung beobachtet. Ebenso konnte Pankow bei den gleichen Tieren (Kaninchen) dasselbe sehen. Weiter meint Pankow aus dem Charakter der Blutdruckkurve schließen zu können, daß die Beeinflussung des Blutdrucks durch das Pituitrin eine direkte Herzwirkung ist. Wenn das der Fall ist, und das glauben wir annehmen zu dürfen, denn dafür spricht die sehr exakte Technik der von Pankow[2]) angestellten Versuche, so muß man von dem β-Imidazoläthylamin eine noch viel intensivere Wirkung erwarten; denn in den Versuchen am Säugetierherz ist immer eine ungemein intensive Beeinflussung der Herztätigkeit zu sehen und, was wichtig ist, auch im Sinne der Frequenzsteigerung. Es fehlen nur die nach den Pituitrininjektionen regelmäßig beobachtete Abflachung der Kurve. In beiden Fällen sind Frequenzsteigerungen und Vergrößerung der Contractionshöhen als charakteristisch zu betrachten. Wichtig erscheint es uns auch, daß die Wirkungen vorübergehend sind, öfters ausgelöst werden können, und daß eine toxische Wirkung nur schwer zu erzielen ist; dies erst nach vielmals wiederholten Einführungen der Präparate. Mit anderen Worten: Beide Präparate verfügen über eine ziemlich große therapeutische Wirkungsbreite, obgleich β-Imidazoläthylamin das Herz stärker angreift. Es empfiehlt sich demnach, neben Pituitrin versuchsweise bei cardio-vasculären Störungen auch das β-Imidazoläthylamin zu verwenden und beide Präparate zu vergleichen. β-Imidazoläthylamin hat noch den Vorzug, ein chemisch reines und konstantes Präparat zu sein.

[1]) Journ. of Physiol. 43, 182, 1911.
[2]) Arch. f. d. ges. Physiol. 1912.

Hervorheben möchten wir noch, daß die Wirkung des β-Imidazoläthylamin zwar prinzipiell der Pituitrinwirkung entspricht, daß aber doch deutliche, quantitative und, soweit das Froschherz in Betracht kommt, auch qualitative Unterschiede vorhanden sind. Am Säugetierherzen wirkt β-Imidazoläthylamin intensiver als Pituitrin.

Woher es kommt, daß mit Ringer-Lösung durchspülte Herzen so viel intensiver auf die Injektion des β-Imidazoläthylamins reagieren, als die mit Blut gespeisten, läßt sich einstweilen nicht sicher entscheiden. Weitere Versuche müssen darüber Aufschluß geben.

Ergebnisse I.

Froschherz. Pituitrin.

1. Einmalige kleine Dosen (1 Tropfen 0,1 Pituitrin + 0,9 Ringer): geringe Frequenzerhöhung.

2. Größere Dosen (2 Tropfen): Frequenzabnahme.

3. Wiederholte Dosen (1 bis 2 Tropfen): Frequenzabnahme. In 2 Fällen trat wiederholt Überleitungsstörung auf, bis zu längeren Ventrikelstillständen führend; bei Rückkehr zur Norm allmähliche Besserung der Überleitungsstörung. In allen anderen Versuchen erfolgte die Frequenzabnahme durch Hemmung der Reizbildung, auch die Vorhöfe standen still.

4. Bei stillstehendem Herzen (durch Sauerstoffmangel) vorübergehende Wiederherstellung der Herztätigkeit.

Froschherz. β-Imidoazoläthylamin.

1. Frequenzabnahme durch Hemmung der Reizbildung.
2. Gruppenbildung und Stillstände.

Ergebnisse II.

Säugetierherz. Pituitrin.

1. Frequenz: zunächst meist Abnahme, dann mehr oder weniger beträchtliche Steigerung. Besonders gut ausgeprägt ist diese Steigerung in den Kurven der zweiten Versuchsreihe (siehe Serie II).

2. Contractionshöhe: Serie I (Ringer-Speisung): Zunächst bedeutende Abnahme, dann Erhebung zur Norm, meist etwas darüber.

Serie II (Hirudinblutspeisung): Erst eine beträchtliche Abnahme der Contractionshöhe um ca. 30 bis 40%, dann Steigerung um ca. 15 bis 20%.

3. Das absterbende Herz wird vorübergehend zum Schlagen gebracht.

4. Die anfängliche Abnahme der Frequenz und besonders der Contractionshöhe nach der Einführung von Pituitrin Parke Davis & Co. möchten wir als Folge der Chloretonwirkung betrachten.

Säugetier. Chloreton.

1. Frequenz: Meist geringe Frequenzabnahme, dann Rückkehr zur Norm.

2. Contractionshöhe: Erst Abnahme, dann Norm.

Ergebnisse III.

Säugetierherz. β-Imidazoläthylamin.

1. Frequenz: Serie I (Ringer-Speisung): Steigerung auf fast das 2 bis 3fache, einmal Überleitungsstörung bei Dosis 0,5 ccm 1:1000. Endwerte unter der Norm. Der Frequenzsteigerung geht eine vorübergehende unbedeutende Abnahme voran.

Serie II (Hirudinblutspeisung): Vorübergehende Abnahme, dann beträchtliche Steigerung, die Endwerte unter der Norm.

2. Contractionshöhe: Serie I: Beträchtliche Steigerung (bis auf das 4fache).

Serie II: Geringere, aber doch noch bedeutende Steigerung der Contractionshöhe.

Über die Wirkung antiglucosurischer Mittel und über Leberglucosurie. III.

Die Durchblutung der Leber unter dem Einfluß verschiedener Agenzien.

Von

Ernst Neubauer.

(Aus der I. medizinischen Universitätsklinik in Wien.)

(Eingegangen am 5. Mai 1913.)

Mit 11 Figuren im Text.

In einer früheren Mitteilung[1]) wurden Versuche veröffentlicht, in denen mit Hilfe der onkometrischen Methode die Beeinflussung des Lebervolumens hauptsächlich durch intravenöse Adrenalinzufuhr untersucht worden war. Die Versuchsergebnisse ließen an die Möglichkeit und Wahrscheinlichkeit denken, daß zwischen zuckertreibender und Gefäßwirkung innige Beziehungen bestehen. Von diesem Gesichtspunkte aus schien der Versuch berechtigt, die beim Adrenalin gewonnenen Erfahrungen zu erweitern durch Untersuchung des Effekts einer größeren Anzahl von Eingriffen auf die Blutfüllung der Leber, besonders solcher Eingriffe, die zur Glucosurie führen oder eine experimentell hervorgerufene Glucosurie antagonistisch beeinflussen. Wie vorausgeschickt werden soll, sprechen auch die Ergebnisse der neuen Versuchsreihe für eine gewisse kausale Bedeutung der Spasmen im Splanchnicusgefäßsystem und der konsekutiven, venösen Leberhyperämie beim Zustandekommen der Glucosurie, wenn auch zugegeben werden muß, daß selbst ein durchgreifender Parallelismus in der Leberhyperämie erzeugenden und zuckertreibenden Wirkung verschiedener Mittel oder physikalischer Eingriffe die Annahme dieses wahrschein-

---

[1]) Diese Zeitschr. 43, 335, 1912.

lichen Zusammenhangs nicht zur vollen Gewißheit macht. Übrigens sind die Versuchsergebnisse an sich als Beiträge zur Kenntnis des Verhaltens der Gefäße in einem so wichtigen Organ wie die Leber nicht ohne Interesse.

Die verwendete Methode war die in der früheren Mitteilung beschriebene Plethysmographie der Leber. Die Plethysmographie dieses Organs, das wegen seiner Konsistenz und seiner Lappenbildung für diese Methode sehr geeignet erscheint, hat freilich auch gewisse Nachteile. So wird vor allem die Deutung der Versuchsergebnisse durch die Nähe des rechten Herzens erschwert, da jede Störung in der Arbeit dieses Herzabschnitts, jede Veränderung des Venendrucks sich zunächst in dem mächtigen, benachbarten Blutreservoir der Leber geltend machen muß[1]). Auch die Versorgung der Leber durch ein zweifaches Gefäßgebiet erschwert die Deutung der durch Onkometrie gewonnenen Resultate. Diese komplizierenden Umstände lassen sich aber einigermaßen umgehen. Schaltet man nämlich die Pfortader durch Zuziehen einer am besten bei Versuchsbeginn gelegten Schlinge aus und tritt nun z. B. die Lebervolum-vergrößernde Wirkung eines Eingriffs nicht in Erscheinung, so spricht dieses Verhalten mit großer Wahrscheinlichkeit dafür daß die Leberanschwellung, die der Eingriff bei freier Pfortaderzirkulation bedingt, nicht durch Rückstauung vom Herzen, aber auch nicht durch vermehrten Blutzufluß durch die Leberarterie, sondern durch einen gesteigerten Pfortaderzustrom bedingt ist. Immerhin mag auch dieser Beweis kein absoluter sein, da die Pfortaderunterbindung zu Blutdrucksenkung führt und damit auch der Blutabfluß aus der Leber unter geänderten Bedingungen erfolgt. Mit Bezug auf die weitere Analyse der einzelnen Faktoren, die beim An- oder Abschwellen der Leber eine Rolle spielen, kann die Plethysmographie der Leber eine Ergänzung durch Messungen der Stromgeschwindigkeit in den verschiedenen Gefäßen mit Hilfe der Stromuhr finden, eine Methode, die neuerdings von R. Burton-Opitz[2]) mit Erfolg verwendet wurde. Gegenüber dieser Methode und vor allem gegenüber Versuchen an der aus dem Organismus entfernten, künstlich durchströmten Leber bietet die Onkometrie durch

[1]) Siehe Tacher, Arch. f. klin. Med. 97, 104.

[2]) Quarterly Journ. of experim. Physiol. 4, 5.

die Untersuchung am lebenden, wenig geschädigten Tier den Vorteil, das wohl auch unter normalen Verhältnissen eintretende, summarische Ergebnis mehrerer etwaiger Einzelwirkungen anzuzeigen.

Die Angaben bezüglich der in der früheren Mitteilung beschriebenen Technik können auf Grund größerer Erfahrung in mancher Hinsicht ergänzt werden. Man verwendet zweckmäßig nicht zu kleine Tiere, die reichlich gefüttert sein sollen; die Leber ist dann nicht schlaff und die Volumenschwankungen sind unter sonst gleichen Bedingungen leichter darstellbar. Zur Freilegung des Leberlappens wird außer einem Schnitt in der Linea alba ein darauf senkrechter nach links, am besten möglichst nahe dem linken Rippenbogen geführt. Es ist ferner vorteilhaft, falls — was in meinen Versuchen stets geschah — der Carotisblutdruck geschrieben wird, die Carotis erst dann mit dem Manometer zu verbinden, wenn die Leber zum Versuch adaptiert ist; befolgt man dies nicht, so kommt es durch die beim Freilegen der Leber und der Anpassung des Onkometers auftretenden Blutdruckschwankungen zum Einfließen beträchtlicher Mengen der gerinnungshemmenden Zwischenflüssigkeit (konz. Magnesiumsulfatlösung) in die Carotis; aus dem gleichen Grunde ist es zweckmäßig, im Manometer von vornherein keinen zu großen Überdruck zu geben.

Von den untersuchten Substanzen erscheint zunächst das Adrenalin als ein in besonderem Maße glucosurisch wirkender Körper wichtig. Es führt, wie in der früheren Mitteilung dargelegt ist, bei intravenöser Anwendung zu einer onkometrisch schön darstellbaren venösen Hyperämie der Leber. Bei der Bedeutung der subcutanen Injektion für das Zustandekommen der Adrenalinglucosurie war auch die Wirkung dieser Anwendungsart auf das Lebervolumen zu verfolgen. Falta und Priestley[1]) sahen bei Hunden, die Adrenalin subcutan erhalten hatten, eine starke Hyperämie der Leber. Die Plethysmographie ist im allgemeinen für das Studium der Gefäßwirkung eines subcutan einverleibten, ganz allmählich zur Resorption kommenden Mittels keine ideale Methode, dürfte wenigstens in diesem Falle der histologischen Untersuchung nachstehen;

[1]) Berl. klin. Wochenschr. 1911, Nr. 47.

denn die meisten Organe erhalten ihr Volumen nicht so konstant, daß relativ kleine, in längeren Zeiträumen sich abspielende Veränderungen ihres Volumens mit Sicherheit als Folge eines bestimmten Eingriffs aufgefaßt werden dürfen; dazu kommt noch, daß das Onkometer nicht leicht so dicht hält, daß diese langsamen Änderungen der Organgröße nicht zu einem Druckausgleich mit der Außenluft führen. Dies gilt aber nicht für die subcutane Adrenalinzufuhr, zumal die Lebervolumenkurve in sehr vielen Fällen ihr Niveau ganz gleichmäßig erhält und die Erhebung über dieses Niveau nach der Adrenalininjektion zeitlich der meist zu beobachtenden, wenn auch nur mäßigen und spät einsetzenden Blutdruckwirkung entspricht. Die subcutane Adrenalineinverleibung führt also meist zu einer Leberschwellung, die zwar nicht so hochgradig ist, wie die nach intravenöser Injektion kleinerer Dosen, aber länger anhält als diese. Im folgenden Versuch steigt die Lebervolumenkurve bei mäßiger Blutdruckerhöhung stark an und erhält sich lange Zeit auf der erreichten Höhe[1]).

Versuch 1.

Kaninchen, 2400 g.

30 ccm 10%ige Urethanlösung per os um 10 Uhr 15 Min. Leberplethysmographie, Blutdruckschreibung, Injektionskanüle in der Jugularvene.

20. III.	Blutdruck	Lebervolumen[2])
12 Uhr 51 Min. 2 ccm Adrenalin 1:1000 subcutan		
52 „	42	0
1 „ 5 „	42	0
7 „ 30 Sek.	46	+ 1
10 „	52	+ 3
16 „	53	+ 8
20 „	62	+16
24 „	62	+45
27 „	62	+59

Von anderen Substanzen, die als normale Körperbestandteile anzusehen sind, wurden zwei Hypophysenpräparate hinsichtlich ihrer Wirkung auf die Leberdurchblutung geprüft, das

[1]) Aus größeren Versuchsreihen werden im folgenden nur ein oder einige wenige Protokolle angeführt.

[2]) + mm über, — mm unter dem Normalniveau der Lebervolumenkurve; einer Niveauveränderung der Volumenkurve um 30 mm entspricht eine Volumenzu- oder -abnahme des Leberlappens um 1 ccm.

Pituitrium infundibulare und glandulare (Parke Davis & Co.). Das Pituitrin aus dem infundibularen Hypophysenabschnitt hat eine dem Adrenalin ähnliche Blutdruckwirkung. Doch ist die Blutdrucksteigerung nicht so stark, hält andererseits länger an als nach Adrenalin. Eine zuckertreibende Wirkung wird ihm von verschiedenen Autoren zugeschrieben, wurde neuerdings auch beim Menschen von bestimmter Konstitution von Claude, Baudoin und Porak[1]) beobachtet. Auf die Leber wirkt das Pituitr. infundib., in eine Jugular- oder Mesenterialvene injiziert, hyperämisierend; die Leberhyperämie bleibt aus nach Pfortaderunterbindung; die Tatsache, daß Wiederholung der Injektion die Hypophysinblutdrucksteigerung abschwächt, wurde bei der Versuchsanordnung berücksichtigt.

Versuch 2.

Kaninchen, 2000 g.

Urethannarkose, Leberplethysmographie, Blutdruckschreibung, Injektionskanüle in der Jugularvene.

17. XI.		Blutdruck	Leber-volumen
5 Uhr 54 Min.		100	0
55 „	2 ccm Pituitr. infund. V. jugular.		
57 „		112	+ 11
6 „ — „		110	+ 8
3 „		108	+ 2
6 „		108	− 2

Versuch 3.

Kaninchen, 1900 g (s. Fig. 1, vgl. auch Fig. 2).

22 ccm 10%ige Urethanlösung um 4 Uhr 50 Min. Leberplethysmographie, Blutdruckschreibung, Injektionskanüle in der Jugularvene.

20. XI.		Blutdruck	Leber-volumen
5 Uhr 44 Min.		87	0
45 „	3 ccm Pituitr. inf. V. jugul.		
46 „		120	+ 9
47 „		106	+ 56
53 „		106	+ 70
6 „ 42 „			0
43 „	2 ccm Pit. infund. V. mesent.		+ 2
44 „			+ 9
45 „			+ 10
48 „	30 Sek.		+ 5

Das aus dem Vorderlappen der Hypophyse dargestellte Pituitrinum glandulare hat eine dem Pit. infund. entgegen-

[1]) Compt. rend. Soc. Biol. 74, 529, 1913.

gesetzte Wirkung. Es setzt in Dosen von 3 bis 4 ccm den Blutdruck[1]) und das Lebervolumen herab; erst nach etwa 15 Minuten ist die Anfangshöhe wieder erreicht. Das Pit. gland. setzt übrigens nach Untersuchungen von **Bernstein** und **Falta**[2] auch die Adrenalinglucosurie herab. Wurde das Pit. gland.

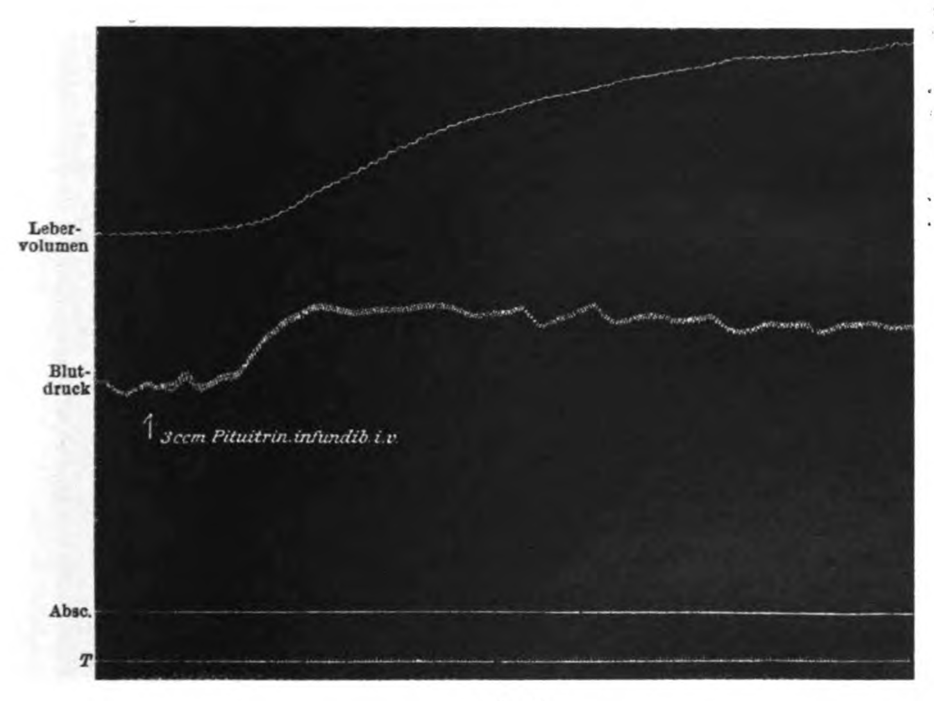


Fig. 1.

mit Alkohol gefällt, so zeigte die im Exsiccator getrocknete, dann in Wasser gelöste Alkoholfällung eine abgeschwächte Leberwirkung; das eingeengte alkoholische Filtrat, in Wasser aufgenommen, das nach **Frankl-Hochwart** und **Fröhlich**[3]) keine Blutdruckwirkung hat, hatte keinen anämisierenden Einfluß auf die Leber.

[1]) Siehe **Falta** und **Ivković**, Wiener klin. Wochenschr. 1909, S. 1806.

[2]) Noch nicht publiziert.

[3]) Siehe **Falta** und **Ivković**, l. c.

Versuch 4.

Kaninchen, 2000 g (s. Fig. 3).

25 ccm einer 10%igen Urethanlösung um 2 Uhr 30 Min. Leberplethysmographie, Blutdruckschreibung, Injektionskanüle in der Jugularvene.

19. XI.		Blutdruck	Lebervolumen
4 Uhr 6 Min.		68	0
7 „	30 Sek. 4 ccm Pituitr. gland. V. jug.	78	+1
8 „		50	−4
13 „		46	−6
16 „		54	−4
23 „	30 Sek.	61	−1
30 „		72	+2

Die vom Leberplethysmographen registrierten Atemschwankungen zeigen ein verlängertes Exspirium.

Die Adrenalinwirkung auf den Blutdruck kann vor allem durch zwei Substanzen wesentlich beeinflußt werden: durch Cocain und Ergotoxin. Das **Cocain**, das an sich in mittleren Dosen keinen nennenswerten Einfluß auf den Blutdruck hat, bisweilen einen Blutdruckanstieg um einige Millimeter Hg, häufiger unmittelbar nach der Injektion einen vorübergehenden Blutdruckabfall verursacht, führt, wie **Fröhlich** und **Löwi**[4]) gezeigt haben, wenn man es nach einer subcutan einverleibten Adrenalindosis, die den Blutdruck nicht beeinflußte oder deren Blutdruckwirkung bereits abgeklungen ist, intravenös injiziert zu einer sehr beträchtlichen Blutdrucksteigerung. Ganz analog ist auch die Wirkung des Cocains auf das Lebervolumen.

Versuch 5.

Kaninchen, 2600 g.

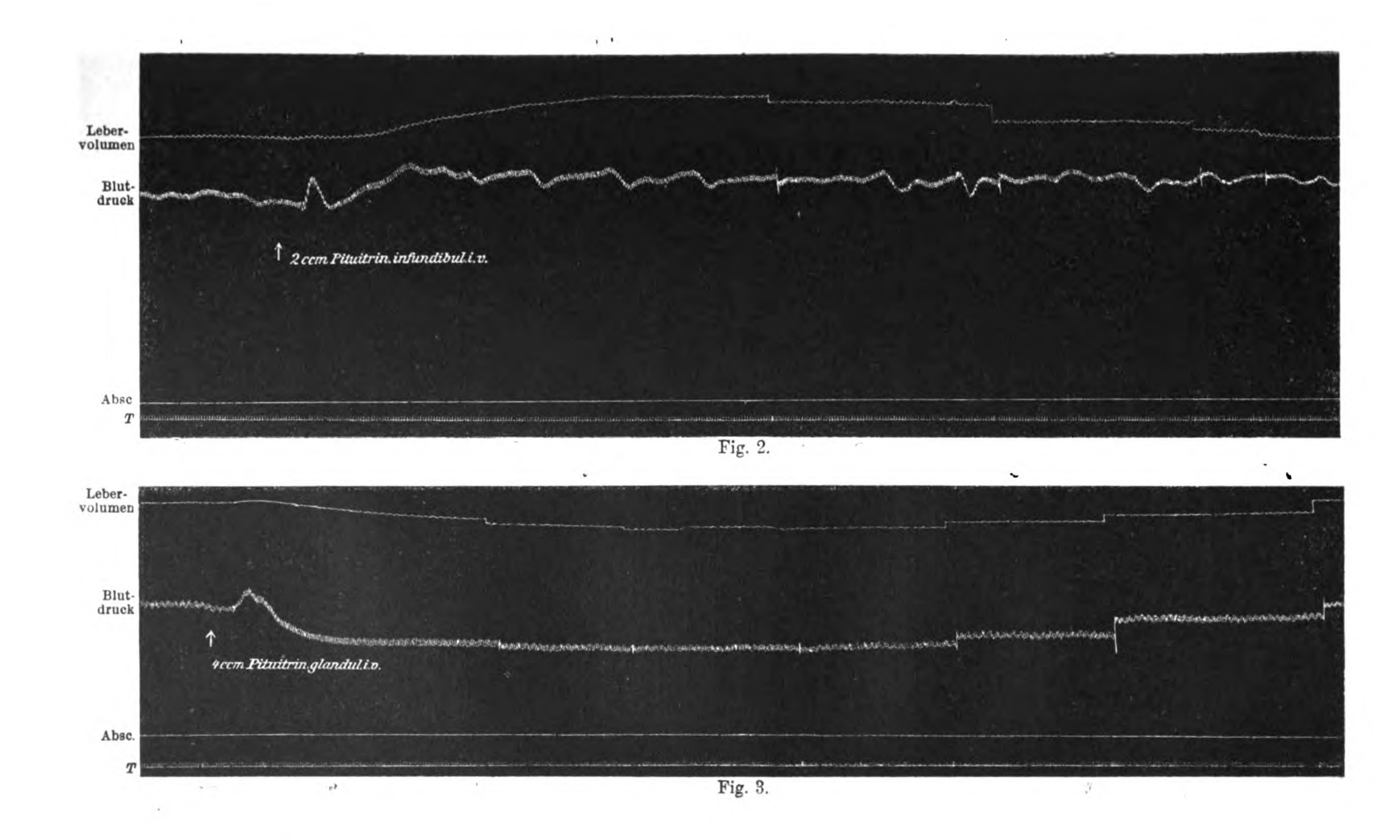
32 ccm Urethan um 11 Uhr. Leberplethysmographie, Blutdruckschreibung, Injektionskanüle in der Jugularvene.

14. III.	Blutdruck	Lebervolumen
12 Uhr 30 Min. 30 Sek. 2 mg Cocain V. jug.	100	0
34 „	70	−11
36 „	70	− 8

Hierauf werden 2 ccm Adrenalin 1 : 1000 subcutan injiziert und nach Ablauf der typischen Leber- und Blutdruckwirkung neuerlich um

12 Uhr 50 Min. 30 Sek. 2 mg Cocain V. jug.	95	0
53 „	90	+1
58 „	110	+9
1 Uhr 1 „	154	+3
5 „	120	−2

[4]) Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol. 62, 159, 1910.


Leber-
volumen
Blut-
druck
2 ccm Pituitrin. infundibul. i. v.
Absc
T
Fig. 2.

Leber-
volumen
Blut-
druck
4 ccm Pituitrin. glandul. i. v.
Absc.
T
Fig. 3.

In dem oben angeführten Versuch 1 veranlaßten 2 mg Cocain 45 Minuten nach einer subcutanen Injektion von 2 mg Adrenalin einen Leberkurvenanstieg von 30 mm bei einer Blutdrucksteigerung um 59 mm Hg.

Wirkt das Cocain die Adrenalinwirkung potenzierend auf die Blutfüllung der Leber und auf den Blutdruck, so ist der Ergotoxineffekt in dieser Hinsicht gerade entgegengesetzt. Nach den Versuchen von H. H. Dale[1]) erhöht Ergotoxin den Blutdruck, aber nur bei künstlicher Atmung. Läßt man der Ergotoxininjektion eine Adrenalininjektion folgen, so verursacht das Ergotoxin eine Hemmung der Adrenalinwirkung überall, wo das Adrenalin fördernd wirkt. Adrenalin wirkt dann bei manchen Tieren sogar blutdrucksenkend; beim Kaninchen ist die Blutdruckerhöhung kleiner als sie ohne die vorausgegangene Ergotoxininjektion gewesen wäre, bei richtig gewählten Dosen auch gleich Null. Das in den folgenden Versuchen verwendete Ergotoxinphosphat (Borrough Wellcome & Co.) verursachte in destilliertem Wasser gelöst, in eine Jugular- oder Mesenterialvene injiziert, bei Kaninchen, die nicht künstlich ventiliert wurden, meist nach einer ganz kurzen Drucksteigerung Blutdruckabfall, bisweilen auch einen länger währenden Druckanstieg, und hob in vielen Fällen die Gefäßwirkungen einer folgenden Adrenalininjektion auf. Es verkleinerte meist das Lebervolumen und verringerte oder verhinderte auch die hyperämisierende Adrenalinwirkung.

Versuch 6.

Kaninchen, 2000 g.

23 ccm 10%ige Urethanlösung um 10 Uhr 15 Min. Leberplethysmographie, Blutdruckschreibung, Injektionskanüle in der Jugularvene.

1. XI.		Blutdruck	Lebervolumen
12 Uhr 7 Min.		132	0
7 „	30 Sek. 2,5 mg Ergotoxin V. jug.		
9 „		43	— 17
12 „		36	— 9
12 „	30 Sek. 2 mg Adrenalin 1:100000 V. jug.		
13 „		38	— 2
15 „		40	+ 2
15 „	30 Sek. 3 ccm Adrenalin 1:100000 V. jug.		
17 „		45	+ 5

[1]) Journ. of Physiol. 34, 163, 1906 und Barger und Dale, Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol. 61, 113, 1909.

Versuch 7.

Kaninchen, 2000 g.

22 ccm 10%ige Urethanlösung um 4 Uhr 15 Min. Leberplethysmographie, Blutdruckschreibung, Injektionskanüle in der Jugularvene.

3. XI.		Blutdruck	Lebervolumen
5 Uhr 14 Min.		52	0
14 „	30 Sek. 1,5 mg Ergotoxin V. jugul.		
15 „		38	+ 1
18 „		47	+ 8
18 „	30 Sek. 2 ccm physiol. Kochsalzlösung V. jug.	54	+ 11[1])
19 „	1,5 ccm Adrenalin 1:10000 V. jug.		
20 „		76	+ 4
21 „		54	− 1
23 „		64	− 5
24 „	3 ccm Adrenalin 1:100000 V. jug.		
25 „		78	+ 2

Ergotoxin hebt aber nicht nur die nach Adrenalininjektion eintretende Leberhyperämie auf, es verhindert oder verringert auch die bei Asphyxie auftretende Leberschwellung. Tafel IV zeigt eine typische Lebervolumen- und Blutdruckkurve bei Asphyxie, die durch einen 40 Sekunden währenden Trachealverschluß hervorgerufen wurde.

Versuch 8.

Kaninchen, 1700 g (s. Fig. 4).

20 ccm 10%ige Urethanlösung um 2 Uhr 20 Min. Leberplethysmographie, Blutdruckschreibung, Injektionskanüle in der Jugularvene.

6. XI.		Blutdruck	Lebervolumen
4 Uhr		66	0
1 Min.	Trachealverschluß während 30 Sek.		
2 „		98	+ 22
7 „		74	+ 13
	Trachealverschluß während 40 Sek.		
8 „		112	+ 40
11 „		84	+ 23
22 „			+ 10

[1]) Für die weitere Kurve gilt + 11 als Nullpunkt.

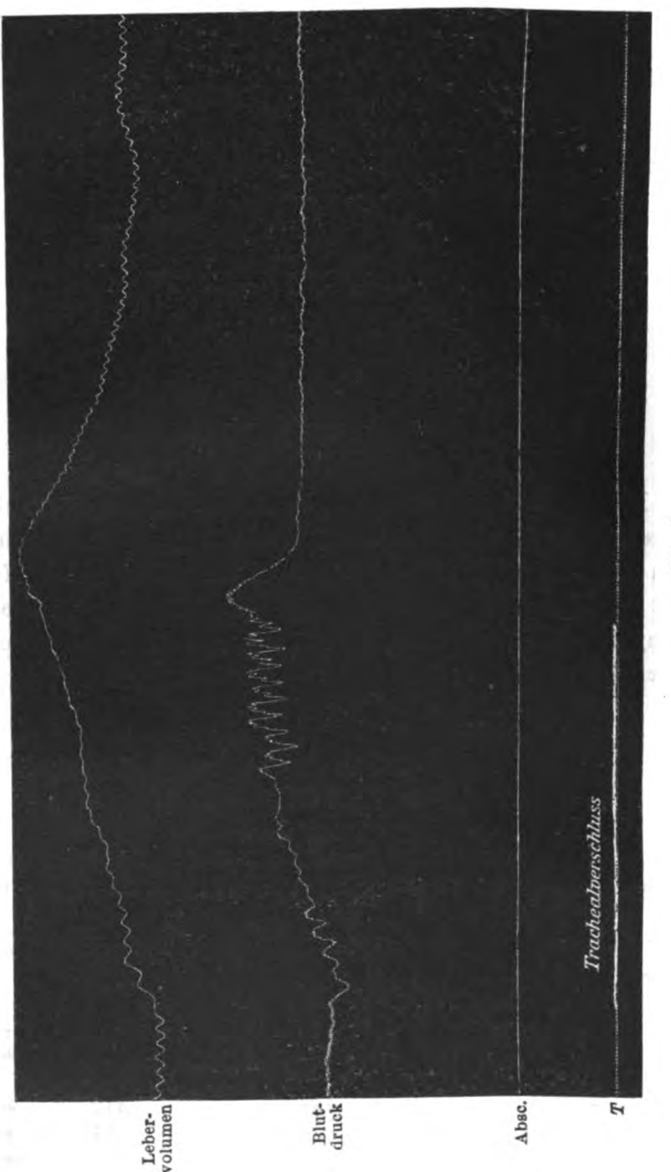


Fig. 4.

Versuch 9 (s. Fig. 5).

22 ccm 10%ige Urethanlösung um 11 Uhr 15 Min. Leberplethysmographie, Blutdruckschreibung, Injektionskanüle in der Jugularvene.

9. XI.		Blutdruck	Lebervolumen
1 Uhr		78	0
1 Min.	Trachealverschluß während 50 Sek.		
2 „		130	+ 6
3 „		82	+ 5
4 „		82	+ 18
5 „	3 mg Ergotoxin V. jug.	47	− 1
7 „	Trachealverschluß während 50 Sek.		
8 „		48	+ 0
9 „		44	+ 5
10 „		37	+ 8

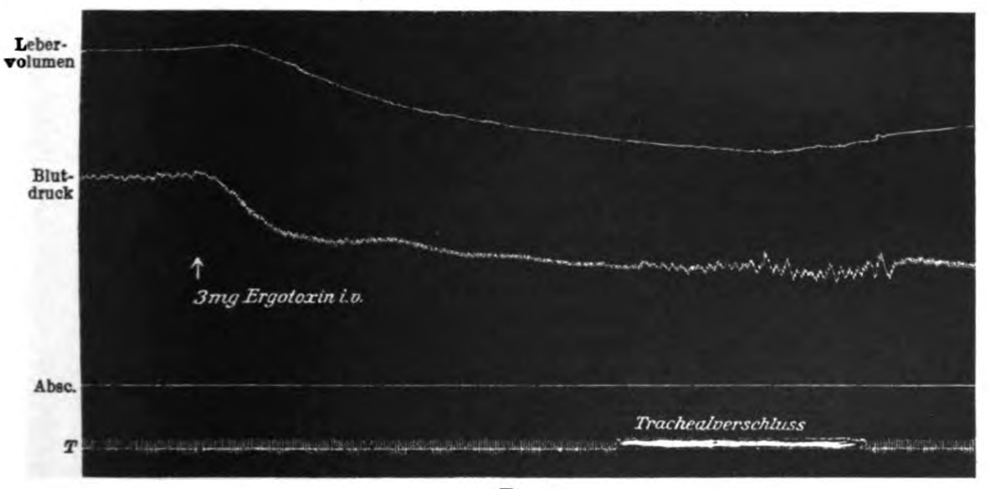


Fig. 5.

Die beobachtete Verringerung der Adrenalinstase in der Leber durch Ergotoxin könnte die Ansicht von der Bedeutung der venösen Stauung und Anoxybiose der Leber für das Zustandekommen der Glucosurie stützen. Mikulicich[1]) hat nämlich in einer Arbeit aus dem Grazer pharmakologischen Institut gezeigt, daß die Adrenalin- und die gleichfalls durch Sympathicusreizung verursachte Diuretinglucosurie durch Ergotoxin gehemmt wird; der Phlorizindiabetes wird durch Ergotoxin nicht antagonistisch beeinflußt. Das Auftreten der Zuckerstichglucosurie wird nach eigenen, zu anderen Zwecken ausgeführten Versuchen durch präventive Ergotoxindosen gehemmt.

[1]) Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol. 69, 128 u. 133, 1912.

Versuch 10.

Kaninchen, 1800 g.

16. I. 5 Uhr p. m. 20 g Traubenzucker in 50 ccm Wasser per os.

17. I. 1 Uhr 35 Min. bis 1 Uhr 45 Min. Zuckerstich und Wurmspaltung.

1 Uhr 40 Min. 4 mg Ergotoxin subcutan.

Harn von 1 Uhr 40 Min. bis 3 Uhr 40 Min. 8 ccm, zuckerfrei.

Versuch 11.

Kaninchen, 1700 g.

29. I. 5 Uhr p. m. 20 g Traubenzucker in 50 ccm Wasser.

30. I. 10 Uhr 10 Min. 4 mg Ergotoxin subc.

10 Uhr 10 Min. bis 10 Uhr 20 Min. Zuckerstich und Wurmspaltung.

Harn von 10 Uhr 5 Min. bis 10 Uhr 30 Min. 6 ccm, geringe Nachreduktion, kein Zucker.

Harn von 10 Uhr 30 Min. bis 3 Uhr 20 Min. 6,2 ccm, zuckerfrei.

Versuch 12.

Kaninchen, 1500 g.

30. I. 5 Uhr p. m. 20 g Traubenzucker in 50 ccm Wasser.

31. I. 10 Uhr 4 mg Ergotoxin subc.

10 Uhr bis 10 Uhr 10 Min. Zuckerstich und Wurmspaltung.

Harn von 10 Uhr bis 4 Uhr 10 Min. 11 ccm, zuckerfrei.

Versuch 13.

Kaninchen, 1500 g.

3. II. 20 g Traubenzucker in 50 ccm Wasser.

4. II. 10 Uhr 12 Min. 4 mg Ergotoxin subc.

10 Uhr 15 Min. bis 10 Uhr 25 Min. Wurmspaltung und Zuckerstich.

Harn von 10 Uhr 25 Min. bis 1 Uhr 25 Min. 3,5 ccm, zuckerfrei.

Von klinisch und pharmakologisch wichtigen Substanzen wurden ferner Strophanthin, Coffein, Diuretin, Phlorizin und Veronal auf ihre Wirkung in bezug auf das Lebergefäßsystem untersucht. Strophanthin führt intravenös injiziert zu Blutdrucksteigerung. Gottlieb und Magnus[1]) analysierten die Gefäßwirkungen der Digitaliskörper und fanden hierbei, daß Strophanthin die Gefäße des Splanchnicusgebietes zur Contraction bringt. Das Darm- und Milzvolumen sinkt, das Beinvolumen nimmt zu, und zwar passiv durch Blutverdrängung aus dem Splanchnicusgebiet, denn nach Abbindung dieses Gefäßgebietes nimmt das Beinvolumen unter Strophanthinwirkung ab. Die Leber verhielt sich nun in den unten angeführten Onkometerversuchen ganz anders als die Milz; ihr Volumen nahm wie

[1]) Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol. 47, 135, 1902.

unter Adrenalinwirkung zu, und zwar wie das Beinvolumen auch passiv; die Leberschwellung blieb nach Pfortaderunterbindung aus.

Versuch 14.

Kaninchen, 1900 g.

21 ccm 10%ige Urethanlösung um 10 Uhr 30 Min. Leberplethysmographie, Blutdruckschreibung, Injektionskanüle in der Jugularvene.

29. X.		Blutdruck	Leber-volumen
11 Uhr 35 Min.		48	0
36 „	0,25 mg Strophanthin (Böhringer) V. jug.		
38 „		76	+ 58
40 „		70	+ 66
45 „		60	+ 59
49 „		58	+ 44
52 „		56	− 1

Versuch 15.

Kaninchen, 1700 g (s. Fig. 6).

20 ccm 10%ige Urethanlösung um 9 Uhr 15 Min. Leberplethysmographie, Blutdruckschreibung, Injektionskanüle in der Jugularvene.

30. X.		Blutdruck	Leber-volumen
11 Uhr 2 Min.		92	0
2 „	30 Sek. 0,17 mg Strophanthin V. jug.		
4 „		108	+ 21
5 „		104	+ 16
9 „		103	+ 3
11 „		104	+ 1

Versuch 16.

Kaninchen, 2500 g.

30 ccm 10%ige Urethanlösung um 10 Uhr 25 Min. Leberplethysmographie, Blutdruckschreibung, Injektionskanüle in der Jugularvene.

5. III.		Blutdruck	Leber-volumen
11 Uhr 35 Min.		97	0
35 „	30 Sek. 0,17 mg Strophanthin V. jug.		
37 „		124	+ 8
38 „		120	+ 13
41 „		102	+ 17
45 „	Pfortaderverschluß	92	+ 14
46 „		52	+ 11
47 „	0,17 mg Strophanthin V. jug.		
48 „		65	+ 4
49 „		56	0

In dieser typischen Art verlief eine große Zahl von Versuchen. Nur in einem Falle zeigte eine anfänglich gestaute, konstant an Volumen abnehmende Leber nach Strophanthin keine Leberschwellung, sondern eine geringe Beschleunigung der Größenabnahme; das deutet die Möglichkeit an, daß die Reaktion des Lebergefäßsystems in gewissem Ausmaße von dem

jeweils herrschenden Füllungszustand mit beeinflußt wird. — Ergotoxin setzte in einem Versuche die Strophanthin-Leberschwellung herab.— Im allgemeinen reagiert die Leber auf Strophanthin ganz ähnlich wie auf Adrenalin; doch ist das Adrenalin wirksamer, da es in kleinen Dosen Leberschwellung vom gleichen Umfang veranlaßt wie 10 bis 20fach größere Strophanthindosen. Daran und an der viel größeren Giftigkeit des Strophanthins könnte es gelegen sein, daß über eine wesentliche glucosurische Wirkung dieses Körpers nichts bekannt ist; es gelang mir zwar in Versuchen mit intravenöser Dauerinfusion von Strophanthinlösung Glucosurie zu erzielen, aber erst mit stark toxischen Dosen.



Fig. 6.

Die in großen Dosen glucosurisch wirkenden Substanzen Coffeinum natrio-benzoicum und Theobrominum natrio-salicylicum (Diuretin) führen, in wässeriger bzw. sodaalkalischer Lösung intravenös injiziert, zu einer mit Blutdrucksenkung einhergehenden Leberschrumpfung mit folgender Volumenvergrößerung, die bei Coffeindosen unter 0,1 g in der Regel, bei Diuretin aber oft nicht das Normalvolumen überschreitet. Kontrollen mit gleich starken Sodalösungen hatten keine Leber- und Blutdruckwirkung.

Versuch 17.

Kaninchen, 2600 g (s. Fig. 7).

32 ccm 10%ige Urethanlösung um 11 Uhr. Leberplethysmographie, Blutdruckschreibung, Injektionskanüle in der Jugularvene.

14. III.		Blutdruck	Lebervolumen
12 Uhr 5 Min.		96	0
5 „	30 Sek. 0,05 g Coff. natrio-benz. V. jug.		
6 „		40 bis 82	− 14
7 „		96	− 6
8 „		102	+ 7
10 „		100	+ 7

Versuch 18.

Kaninchen, 1800 g.

20 ccm 10%ige Urethanlösung um 1 Uhr 30 Min. Leberplethysmographie, Blutdruckschreibung, Injektionskanüle in der Jugularvene.

25. XI		Blutdruck	Lebervolumen
2 Uhr 56 Min.		97	0
56 „	30 Sek. 0,025 g Coff. natrio-benz. V. jug.		
56 „	40 „	100	+ 0,5
57 „		80	− 0,5
57 „	30 „	97	+ 1
59 „		101	+ 2
3 Uhr 1 „		101	+ 4
6 „		99	+ 7
10 „		97	+ 6
15 „		95	− 3

Versuch 19.

Kaninchen, 2600 g.

32 ccm 10%ige Urethanlösung um 11 Uhr. Leberplethysmographie, Blutdruckschreibung, Injektionskanüle in der Jugularvene.

14. II.		Blutdruck	Lebervolumen
11 Uhr 59 Min.		104	0
59 „	30 Sek. 0,05 g Diuretin V. jug.	110	+ 3
12 „ — „	30 „	76	− 13
2 „		96	+ 1
3 „		96	+ 5
5 „		104	+ 11

Die Lebervolumenkurve zeigt nach Diuretin auf der Höhe der Inspirationsbewegungen Atempausen.

Auffallend bei den Coffein- und besonders bei den Diuretinleberkurven sind die starken Volumenschwankungen. Eine primäre Leberschrumpfung tritt auch bei Diuretininjektion in eine Mesenterialvene auf. Der Leberschrumpfung folgt eine Schwellung, ohne daß aber, besonders nach Diuretininjektionen, stets die Norm wieder erreicht oder überschritten wird. Blieb die Leber unter Normalgröße, so fehlte auch die Glucosurie. Die Frage, ob die geringgradige Leberstauung im Verein mit der sehr starken Diurese ausreicht, um das Zustandekommen der glucosurischen Wirkung dieser beiden Substanzen zu erklären, muß dennoch offen bleiben[1])

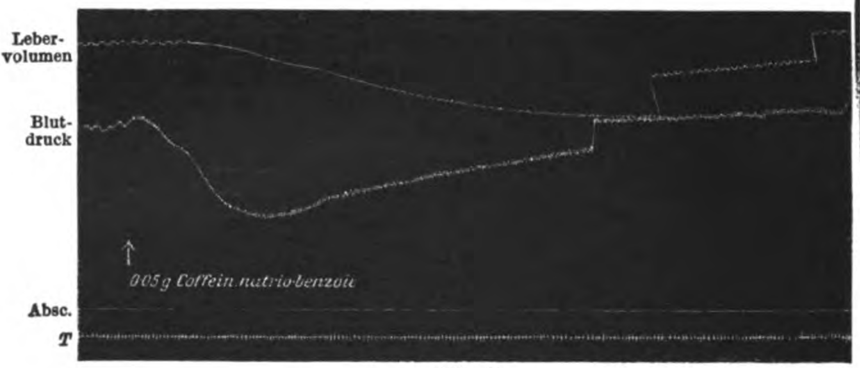


Fig. 7.

Phlorizin wurde subcutan in Olivenöl emulgiert und intravenös in 0,66 $^0/_0$iger Sodalösung gegeben. Die subcutane Injektion hatte keine sichere Leberwirkung im Sinne einer Schrumpfung oder Schwellung. Eigentümlich waren periodische, etwa eine Viertelstunde nach subcutaner Phlorizininjektion (1 g pro Kilogramm Tier) einsetzende Volumenschwankungen der Leber und Blutdruckschwankungen, die sich in Zwischenräumen von etwa 1 Minute wiederholten und als plötzliches Absinken beider Kurven um einige Millimeter mit langsamem Wiederanstieg registriert wurden. Bei intravenöser Injektion sanken zunächst das Lebervolumen und der Blutdruck. Die Leber überschritt auch weiterhin ihre Anfangsgröße nicht[2]).

---

[1]) P. F. Richter, Zeitschr. f. klin. Med. 35, 463.

[2]) Zur Klärung der Frage, ob die Phlorizinglucosurie ein reiner Nierendiabetes sei, oder ob das Phlorizin nicht doch auch eine koordinierte, zuckertreibende Wirkung auf die Leber habe, wurden Versuche angestellt, in denen der Glykogengehalt der Leber von Tieren, die nach

Versuch 20.

Kaninchen, 2400 g.

30 ccm 10%ige Urethanlösung um 2 Uhr 50 Min. Leberplethysmographie, Blutdruckschreibung, Injektionskanüle in der Jugularvene.

11. III.		Blutdruck	Lebervolumen
4 Uhr 22 Min.		92	0
22 „	30 Sek. 0,067 g (= 2 ccm) Phlorizin V. jug.		
23 „		70—110	—6—4
25 „		90	—5
26 „		83	—8
27 „		74	—8

Veronal, das nach eingehenden Untersuchungen von Jacoby und Römer[1]) Blutdrucksenkung durch Lähmung der Capillarwand erzeugt, bringt in sodaalkalischer Lösung, intravenös gegeben, die Leber zum Abschwellen. Die Wirkung von kleinen Dosen bis 0,1 g auf Leber und Blutdruck ist rasch vorübergehend.

Versuch 21.

Kaninchen, 2400 g.

30 ccm 10%ige Urethanlösung um 2 Uhr 50 Min. Leberplethysmographie, Blutdruckschreibung, Injektionskanüle in der Jugularvene.

11. III.		Blutdruck	Lebervolumen
1 Uhr 49 Min.		72	0
49 „	30 Sek. 0,05 g Veronal V. jug.		
50 „		43	—5
50 „	30 „	50	—6
51 „		55	—8
57 „		60	—1

Nierenausschaltung Phlorizin bekommen hatten, mit dem Leberglykogengehalt solcher, denen nur die Niere ausgeschaltet worden war, verglichen werden sollte. Die Nierenausschaltung erfolgte in den ersten Versuchen operativ durch Nierenexstirpation. Grünwald hat gezeigt, daß diese Operation den Glykogengehalt der Leber herabsetzt, nach eigenen Versuchen in relativ kurzen Zeiträumen in individuell sehr verschiedenem Ausmaß. Wurde die Nierenfunktion durch subcutane Injektion von 1,25 bis 1,5 g Weinsäure pro Kilogramm Tier (als Natriumsalz in 10%iger Lösung) ausgeschaltet und nun Phlorizin, in Öl emulgiert, subcutan gegeben, so war der Glykogengehalt der Leber dieser Tiere kaum geringer als der der Kontrolltiere, die nur Weinsäure erhalten hatten. Die Glykogenmengen verhielten sich im Durchschnitt aus 10 Versuchen wie 0,9 : 1,0; bei einzelnen Versuchen war die Glykogenmenge in der Leber des Weinsäure-Phlorizin-Tieres sogar größer als bei dem Kontrolltiere, das nur mit Weinsäure behandelt worden war. Auch Weinsäure veranlaßt nach Underhill Glykogenschwund. In einem großen Teil meiner Versuche kam es übrigens durch Weinsäurewirkung zu einer Glucosurie mäßigen Grades. Im ganzen bietet das Ergebnis dieser Versuchsreihe keinen Anhaltspunkt für die Annahme einer wesentlichen primären Beteiligung der Leber bei der Phlorizinglucosurie.

[1]) Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol. 66, 241.

Außer der Wirkung der erwähnten Substanzen auf die Leberdurchblutung wurde weiter der Effekt des Aderlasses, der Wärme- und Kältereize und der faradischen Reizung einiger Nerven untersucht, die zum Zuckerstoffwechsel in Beziehung stehen.

Bei einem Aderlaß aus der Carotis fängt das Lebervolumen gleich bei Beginn des Blutaustrittes an zu sinken; schon kleine Aderlässe entziehen der Leber relativ beträchtliche Blutmengen.

Versuch 22.

Kaninchen, 2400 g.

25 ccm 10%ige Urethanlösung um 10 Uhr 15 Min. Leberplethysmographie, Blutdruckschreibung. Beide Carotiden präpariert.

23. X.		Blutdruck	Lebervolumen
11 Uhr 26 Min.		58	0
26 „	bis 11 Uhr 28 Min. Durch Aderlaß einer Carotis werden 15 ccm Blut entzogen.		
27 „		48	− 8
28 „		40	− 10
30 „		40	− 13

Intensive thermische Reize, Kälte- und Wärmeeinwirkungen, führen in gleicher Weise während der Reizdauer zu Leberschrumpfung. Der Kältereiz wurde durch Aufgießen von Äther auf die rasierten Bauchdecken oder durch Auflegen eines mit einer Kältemischung gefüllten Beutels auf das Abdomen oder die Carotisgegend erzeugt, der Wärmereiz durch Aufgießen einer geringen Menge Wasser von 60° auf die Bauchdecken. Nach Aufhören des Kälte- oder Wärmereizes stieg das Lebervolumen wieder zur Norm oder etwas darüber an.

Versuch 23.

Kaninchen, 2600 g (s. Fig. 8).

32 ccm 10%ige Urethanlösung um 11 Uhr. Leberplethysmographie, Blutdruckschreibung.

14. III.		Blutdruck	Lebervolumen
12 Uhr 19 Min.		96	0
19 „	30 Sek. Kältemischung auf die Carotisgegend		
20 „		80	− 4
20 „	30 Sek.	90	− 2
25 „		98	+ 6

Versuch 24.

Kaninchen, 2400 g.

30 ccm 10%ige Urethanlösung um 10 Uhr 10 Min. Leberplethysmographie, Blutdruckschreibung.

24. III.		Blutdruck	Leber-volumen
5 Uhr 20 Min.		52	0
	Äther auf die Bauchdecken gegossen		
21 „		51	−4
23 „		58	−4
26 „		70	−8
28 „		70	−8

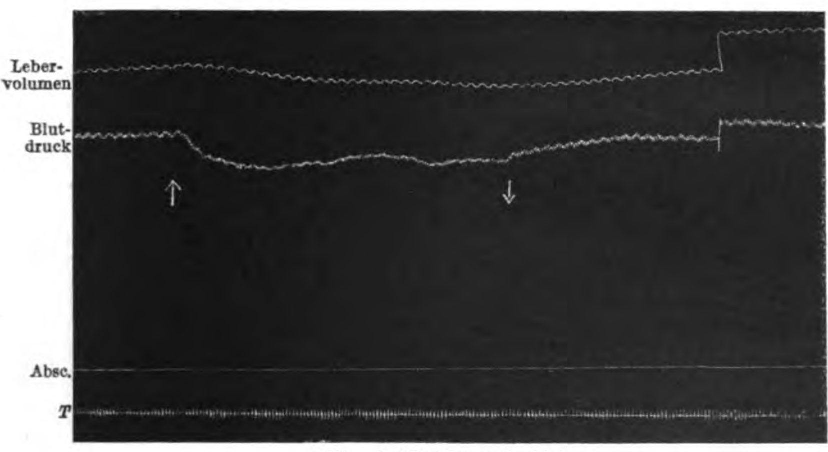


Fig. 8. (S. Versuch 23.)

Versuch 25.

Kaninchen, 2600 g (s. Fig. 9).

32 ccm 10%ige Urethanlösung um 11 Uhr. Leberplethysmographie, Blutdruckschreibung.

14. III.		Blutdruck	Leber-volumen
12 Uhr 25 Min.		98	0
25 „	30 Sek. bis 12 Uhr 26 Min. Wasser von 60° wird aufs Abdomen gegossen		
26 „		88	−5
27 „		95	−2
30 „		100	+7

Von Nerven waren vor allem Vagus und Sympathicus in Betracht zu ziehen. Der Vagusnerv wurde am Halse freigelegt und faradisch gereizt, in anderen Versuchen durchtrennt und der zentrale bzw. der periphere Stumpf elektrisch gereizt. Die Reizung des intakten Nerven und des peripheren Stumpfes

des durchschnittenen bleibt entweder wirkungslos oder führt bei genügender Reizintensität zu Abnahme des Leberumfangs und Absinken des Blutdrucks durch Verringerung der Herzschlagzahl. Die faradische Reizung des zentralen Stumpfes des durchschnittenen Vagus bei intaktem Nerv der anderen Seite macht Leberschwellung, Blutdruckanstieg und Glucosurie. Die Leberschwellung bleibt nach Pfortaderunterbindung aus.

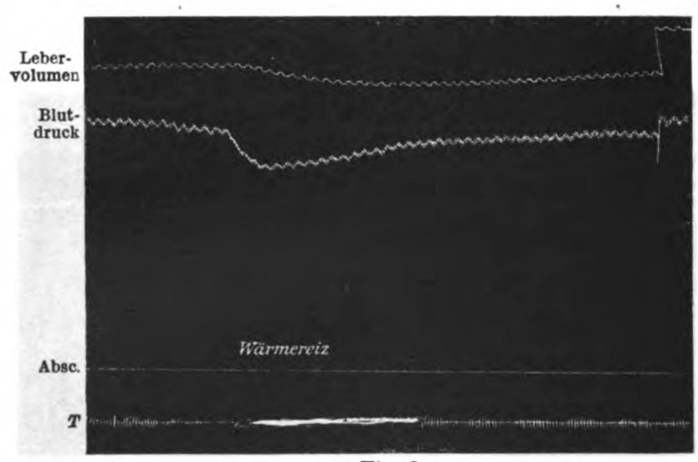


Fig. 9.

Versuch 26.

Kaninchen, 2000 g.

26 ccm 10 %ige Urethanlösung um 1 Uhr 20 Min. Leberplethysmographie, Blutdruckschreibung, Vaguspräparation.

15. III.		Blutdruck	Leber-volumen
2 Uhr 25 Min.		50	0
25 „	40 Sek. bis 2 Uhr 26 Min. Reizung des intakten Vagus	32	— 5
26 „		44	— 9

Versuch 27.

Kaninchen, 2000 g (s. Fig. 10).

26 ccm 10 %ige Urethanlösung um 1 Uhr 20 Min. Leberplethysmographie, Blutdruckschreibung, Vaguspräparation.

15. III.		Blutdruck	Leber-volumen
2 Uhr 28 Min.		48	0
29 „	bis 2 Uhr 29 Min. 25 Sek. Reizung des zentralen Vagusstumpfes		
30 „		43 — 62 — 42	+ 3 + 10 + 8
32 „		45	+ 11

Während des Druck- und Lebervolumenanstiegs setzt die Atmung aus.

Die faradische Reizung des intakten oder durchtrennten N. sympathicus am Halse ist ohne Einfluß auf das Lebervolumen. In einer Versuchsreihe wurde der linke N. splanchnicus freigelegt, auf Elektroden gelagert und nach Adaptierung der Leber faradisch gereizt. Die Reizung führte dann, wenn sie einen Anstieg des Blutdrucks veranlaßte (was aber nicht stets der Fall war) zu Leberschwellung. Hinsichtlich der zuckertreibenden Wirkung der Splanchnicusreizung, über die bis vor kurzem nichts Sicheres bekannt war, hat Macleod[1]) festgestellt, daß elektrische Reizung dieses Nerven eine deutliche Hyperglykämie erzeugt.

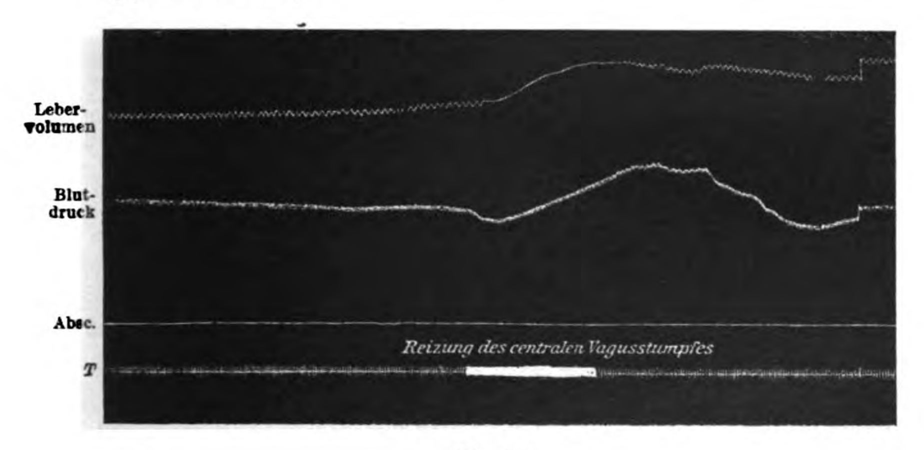


Fig. 10.

Versuch 28.

Kaninchen, 2500 g (s. Fig. 11).

30 ccm 10%ige Urethanlösung um 2 Uhr 50 Min. Der linke N. splanchnicus freigelegt und auf Elektroden gelagert. Leberplethysmographie, Blutdruckschreibung.

18. III.		Blutdruck	Lebervolumen
4 Uhr — Min.		50	0
2 „	10 Sek. bis 4 Uhr 3 Min. 10 Sek. faradische Reizung des linken Splanchnicus		
2 „		52	0
2 „	40 Sek.	67	+ 5
3 „		53	+ 8
3 „	30 „	80	+ 12
4 „		56	+ 17

[1]) Americ. Journ. of Phys. 22, 397, 1908; 23, 278, 1909.

Die angeführten Versuche zeigen, daß eine Leberschwellung herbeigeführt werden kann durch intravenöse und subcutane Injektion von Adrenalin, intravenöse Injektion von Pituitr. infundib., von Strophanthin und Cocain (nach vorausgegangener subcutaner Adrenalininjektion), durch Asphyxie infolge Trachealstenosierung, faradische Reizung des zentralen Vagusstumpfes am Halse und faradische Reizung des Splanchnicus. Volumenabnahme der Leber veranlassend oder Leberschwellung verhindernd wirken intravenöse Injektionen von Pituitrin. glandulare, von Veronal, Chloralhydrat und Ergotoxin, ferner der Aderlaß, Wärme- und Kältereize und faradische Reizung des peripheren

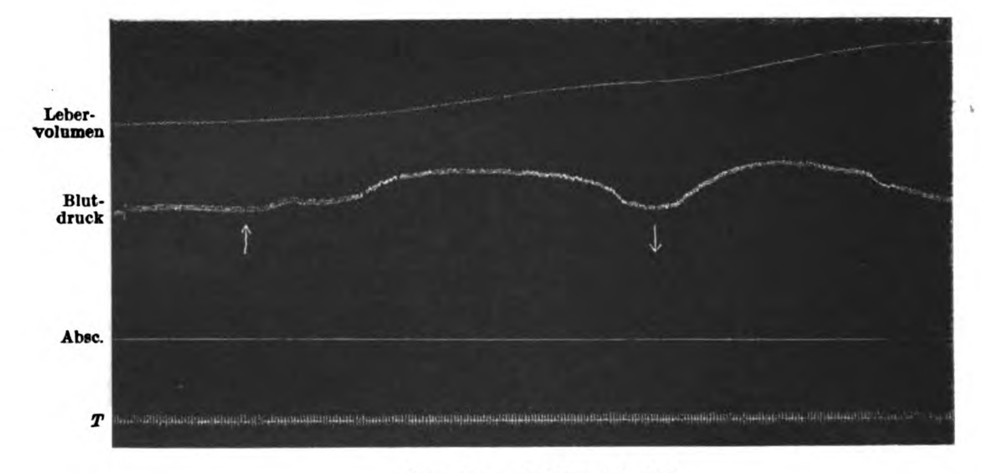


Fig. 11. (S. Versuch 28.)

Vagusstumpfes. Phlorizin und Cocain (allein gegeben) haben keine spezifische Lebervolumenwirkung, Coffein und Diuretin führen zu Volumenschwankungen, das Coffein, weniger das Diuretin mit Tendenz zum Volumenanstieg.

Aus den Versuchen ergibt sich zunächst mit Sicherheit, daß die Größe der Leberblutfüllung im allgemeinen parallel geht der Höhe des Blutdrucks[1]); die Leber verhält sich dabei ähnlich wie die Extremitäten, gerade umgekehrt wie die Milz, die bei Blutdruckanstieg durch Gefäßcontraction im Splanchnicusgebiet abblaßt und schrumpft. Dieses direkte Verhältnis

[1]) Eine Ausnahme bildet das Verhalten der Leber beim Druckabfall vor dem Exitus; hierbei schwillt die Leber onkometrisch nachweisbar an.

zwischen Lebervolumen und Blutdruckhöhe gilt zumindest für die Veränderungen, die durch akute Beeinflussung, wie sie intravenöse Injektionen und faradische Nervenreizung darstellen, zustande kommen; für das Adrenalin sicher auch bei subcutaner Einverleibung. Es ist dabei recht merkwürdig, daß die Leber trotz des langdauernden Gefäßspasmus im Splanchnicusgebiet mehr Blut enthält als unter normalen Verhältnissen. Die Wirkung der erwähnten Eingriffe scheint, wie oben auseinandergesetzt, durch die momentane (z. B. durch die Präparation gesetzte) Tendenz der Leber zum An- oder Abschwellen in geringem Maße in gleichem Sinne beeinflußbar zu sein.

Für die Klinik wäre zu erwägen, ob nicht manche auf vermehrter Blutfüllung beruhende Leberschwellung (aktive Leberhyperämie) durch vermehrten Blutzustrom infolge von Spasmen im Splanchnicusgebiet erklärt werden muß, besonders in Fällen mit akuter Blutdrucksteigerung.

Zum Schlusse sei noch darauf hingewiesen, daß die Eingriffe, die Leberhyperämie durch Vasokonstriktion im Splanchnicusgefäßsystem erzeugen, fast durchweg als zuckertreibend bekannt sind, daß andererseits die Eingriffe, die dieser Leberstauung entgegenwirken, Glucosurien antagonistisch beeinflussen; gleichwohl soll nochmals ausgesprochen werden, daß dieser Parallelismus die ätiologische Bedeutung der Leberhyperämie immerhin nicht absolut sicherstellt, und betont werden, daß auch eine Lebervolumenverminderung, sofern sie durch eine verminderte arterielle Blutversorgung zustande kommt, in gleicher Weise wie die Stauung durch Erzeugung eines anoxybiotischen Zustandes zuckertreibend wirken könnte.

Der Zusammenhang zwischen dem aktiven und inaktiven Zustande des Ferments und der Oberflächenspannung desselben.

Von

M. J. Gramenizky.

(Aus dem pharmakologischen Laboratorium der Militär-medizinischen Akademie zu St. Petersburg.)

(Eingegangen am 17. Mai 1913.)

Das Vorhandensein und Nichtvorhandensein eines Ferments in einer Lösung kann man mit Hilfe seiner enzymatischen Eigenschaften nachweisen. Es gibt keine physikalisch-chemische Reaktion, die für das Ferment als solches charakteristisch wäre. Wir wissen gar nicht, womit fermentative Eigenschaften verbunden sind und was für physikalisch-chemische Veränderungen stattfinden, wenn ein Ferment aus dem aktiven in den inaktiven Zustand übergeht.

Früher konnte ich[1]) zeigen, daß einige Fermente, die durch Erwärmen ihre fermentativen Eigenschaften verloren haben, die sog. spontane Regeneration zeigen, d. h. daß in der Lösung, wo gleich nach dem Erwärmen kein Ferment vorhanden ist, ohne jede äußere Einwirkung mit der Zeit das Ferment sich wieder regeneriert.

Es ist nun festzustellen, in welchem Maße hier die Veränderung der physikalisch-chemischen Eigenschaften eine Rolle spielt und ob eine solche Veränderung überhaupt stattfindet. Wir wollen hier die Veränderung der Oberflächenenergie resp. Oberflächenspannung behandeln.

Fermente sind kolloidale Substanzen par excellence und haben eine enorme Entwicklung der Oberfläche; bei Verände-

[1]) M. Gramenizky, Zeitschr. f. physiol. Chem. 69, 1910. Dissertation 1910 (russisch).

rung der Temperatur ändert sich nun auch der kolloidale Zustand der Lösung. Wir haben vorausgesetzt, daß vielleicht diese mögliche Veränderung des kolloidalen Charakters der fermentativen Lösung mit der Veränderung der fermentativen Eigenschaften selbst in einem Zusammenhang steht und parallel verläuft.

Die Methodik unserer Untersuchungen bestand darin, daß wir die Oberflächenspannung 1. des unerwärmten Ferments, 2. des erwärmten Ferments gleich nach dem Erwärmen und dem Erkalten und 3. des erwärmten Ferments, nachdem es einige Zeit gestanden hat, mittels des Traubeschen Stalagmometers bei ganz gleichen Versuchsbedingungen (Temperetur, bestimmtes Volumen resp. Konzentration der Lösung usw.) bestimmten und auch (in einer Serie der Versuche) die Regeneration des Ferments quantitativ verfolgten. In den meisten Fällen haben wir nur die Veränderung der Oberflächenspannung untersucht, ohne Berücksichtigung der quantitativen Regeneration des Ferments, weil unsere früheren Untersuchungen (l. c.) über diese Regeneration keinen Zweifel bestehen ließen.

Dabei ist noch zu bemerken, daß wir mit ganz klaren Lösungen, die sich nach dem Erwärmen gar nicht trübten und keinen Niederschlag gaben, arbeiteten; der sich bei konzentrierten Fermentlösungen (z. B. 2 %) bildende Niederschlag (Phosphate!) löste sich wieder nach dem Erkalten der Lösung vollkommen auf. Mit anderen Worten: es war keine Veränderung der Eigenschaften der fermentativen Lösung nach dem Erwärmen mit bloßen Augen wahrnehmbar.

Die käuflichen Fermentpräparate — Takadiastase, Parke-Davis — waren mittels Alkoholfällung und Dekantierung nach Möglichkeit gereinigt worden (z. B. von Zucker usw.) und stellten ein weißliches, in Wasser leicht lösliches Pulver, mit ganz schwachen Eiweißreaktionen, dar. Außer — sehr ausgesprochenen — diastatischen Eigenschaften zeigte unser Ferment auch deutliche katalytische und invertierende Eigenschaften; wir verfolgten nur die diastatischen Eigenschaften, weil es für uns zunächst prinzipiell wichtig war, überhaupt die Veränderung der fermentativen Eigenschaften und Oberflächenspannung zu vergleichen.

Die Zuckerbestimmung haben wir volumetrisch mittels Titra-

tion mit Fehlingscher Lösung ausgeführt; jedem ccm Fehlingsche Lösung (verdünnt 1:4) entsprach ungefähr 1 mg Zucker, berechnet auf Glucose.

In unseren Tabellen ist außer der Tropfenzahl auch ihre Beziehung zum Normalstalagmometer (= 100 Wassertropfen bei 15°) bezeichnet und die eigentliche Konstante der Oberflächenspannung γ in Erg nach der Formel

$$\gamma = 7158{,}4\, s \cdot \frac{Zw}{Z}$$

berechnet (Traubes Grundriß der physikal. Chem. bei Eucke 1904; zitiert nach der Gebrauchsanweisung des Stalagmometers).

Serie A.

Versuch 1.

$2\,^0/_0$ige Taka-Diastase-Lösung; Volumen = 100 ccm; 10 Minuten im kochenden Wasserbad.

Oberflächenspannung	Tropfenzahl	$\frac{100 \cdot Z}{Zw}$	$\gamma = 7158{,}4\, s \cdot \frac{Zw}{Z}$	Temp. des Vers.
1. des Wassers	$54^1/_2$	—	—	20°
2. des unerwärmten Ferments	$56^1/_2$	104,6	6873	
3. gleich nach Erwärmen und Erkalten	$64^4/_4$	118,4	6044	
4. nach 2stünd. Stehen .	$63^1/_4$	—	—	
5. nach 24stünd. Stehen (in der Kälte)	$60^1/_4$	111,1	6445	

Versuch 2.

$2\,^0/_0$ige Taka-Diastase-Lösung; Volumen = 100 ccm; 8 Minuten im kochenden Wasserbad.

Oberflächenspannung	Tropfenzahl	$\frac{100 \cdot Z}{Zw}$	$\gamma = 7158{,}4\, s \cdot \frac{Zw}{Z}$	Temp. des Vers.
1. des Wassers	$54^1/_4$	—	—	20°
2. des unerwärmten Ferments	$56^1/_4$	103,7	6904	
3. nach $^1/_2$ Std. nach dem Erwärmen u. Erkalten	$63^3/_4$	117,5	6092	
4. nach 3stünd. Stehen .	$61^3/_4$	113,8	6289	

Versuch 3.

1 %ige Taka-Diastase-Lösung; Volumen = 100 ccm; 9 Minuten im kochenden Wasserbad.

Oberflächenspannung	Tropfenzahl	$\frac{100 \cdot Z}{Zw}$	$\gamma = 7158{,}4 s \cdot \frac{Zw}{Z}$	Temp. des Vers.
1. des Wassers	54	—	—	21°
2. des unerwärmten Ferments	$55^1/_2$	102,5	6981	
3. gleich nach dem Erwärmen	$62^1/_2$	115,3	6185	
4. nach $3^1/_2$ stünd. Stehen	$61^3/_4$	114,3	6260	
5. nach 24 stünd. Stehen (in der Kälte)	60	111,1	6442	

Versuch 4.

1 %ige Taka-Diastase-Lösung; Volumen = 90 ccm; 5 Minuten im kochenden Wasserbad.

Oberflächenspannung	Tropfenzahl	$\frac{100 \cdot Z}{Zw}$	$\gamma = 7158{,}4 s \cdot \frac{Zw}{Z}$	Temp. des Vers.
1. des Wassers	54	—	—	21°
2. des unerwärmten Ferments	55	101,8	7028	
3. gleich nach dem Erwärmen	$62^1/_2$	115,7	6185	
4. nach 4 stünd. Stehen .	$61^1/_2$	113,9	6285	
5. nach 24 stünd. Stehen .	61	112,9	6340	

Versuch 5.

1 %ige Taka-Diastase-Lösung; Volumen = 100 ccm; erwärmt bis 70°.

Oberflächenspannung	Tropfenzahl	$\frac{100 \cdot Z}{Zw}$	$\gamma = 7158{,}4 s \cdot \frac{Zw}{Z}$	Temp. des Vers.
1. des Wassers	$54^1/_4$	—	—	19,5°
2. des unerwärmten Ferments	$54^1/_2$	100,5	7099	
3. gleich nach dem Erwärmen	$60^1/_2$	111,5	6389	
4. nach 24 stünd. Stehen (in der Kälte)	59	108,9	6552	
5. d. unerwärmt. Ferments nach 24 stünd. Stehen (in der Kälte)	$54^1/_2$	—	—	

Versuch 6.

$^1/_4$ %ige Taka-Diastase-Lösung; Volumen = 100 ccm; 5 Minuten im kochenden Wasserbad.

Oberflächenspannung	Tropfenzahl	$\frac{100 \cdot Z}{Zw}$	$\gamma = 7158{,}4_8 \frac{Zw}{Z}$	Temp. des Vers.
1. des Wassers	54	—	—	21°
2. des unerwärmten Ferments	$54^1/_4$	100,5	7125	
3. gleich nach Erwärmen	59	109,2	6552	
4. nach 20 minut. Stehen	$58^1/_2$	108,3	6608	
5. nach 45 minut. Stehen	57	105,6	6783	
6. nach 60 minut. Stehen	$56^3/_4$	105,1	6812	
7. nach 2 std. u. 20 minut. Stehen	55	101,8	7028	

Versuch 7.

$^1/_4$ %ige Taka-Diastase-Lösung; Volumen = 90 ccm; 3 Minuten an der Bunsenflamme.

Oberflächenspannung	Tropfenzahl	$\frac{100 \cdot Z}{Zw}$	$\gamma = 7158{,}4_8 \frac{Zw}{Z}$	Temp. des Vers.
1. des Wassers	$54^1/_4$	—	—	21
2. des unerwärmten Ferments	$54^1/_2$	100,5	7099	
3. gleich nach Erwärmen	59	108,9	6552	
4. nach 48 stünd. Stehen (in der Kälte)	57	105,6	6783	

Versuch 8.

$^1/_2$ %ige Taka-Diastase-Lösung; in 2 Portionen erwärmt; 1. Portion 3 Minuten (bis 75°), 2. Portion 30 Minuten im kochenden Wasserbad.

Oberflächenspannung	Tropfenzahl	$\frac{100 \cdot Z}{Zw}$	$\gamma = 7158{,}4_8 \frac{Zw}{Z}$	Temp. des Vers.
1. des Wassers	$54^1/_4$	—	—	20,5°
2. des unerwärmten Ferments	$54^1/_2$	100,5	7099	
3. des erwärmt. Ferments (3 Min.) gleich nach dem Erwärmen	58	106,9	6665	
4. des erwärmt. Ferments, (3 Min.) nach 24 stünd. Stehen	56	103,2	6903	
5. des erwärmt. Ferments, (30 Min.) gleich nach dem Erwärmen	$58^1/_4$	107,4	6636	
6. des erwärmt. Ferments, (30 Min.) nach 24 stünd. Stehen	$57^1/_2$	105,9	6723	

Versuch 9.

0,8 %ige Taka-Diastase-Lösung wurde innerhalb 2 Tagen in der Kälte gegen destilliertes Wasser dialysiert (Außenflüssigkeit war 4 mal erneut).

Oberflächenspannung	Tropfenzahl	$\frac{100 \cdot Z}{Zw}$	$\gamma = 7158{,}4s \frac{Zw}{Z}$	Temp. des Vers.
1. des Wassers	$54^1/_4$	—	—	20°
2. des unerwärmten Ferments	$54^1/_2$	100,5	7099	
3. des (bis 80°) erwärmten Ferments gleich nach dem Erwärmen . . .	$60^3/_4$	111,9	6363	
4. des erwärmt. Ferments, nach 20 stünd. Stehen (in der Kälte)	$58^3/_4$	108,3	6580	

Wir sehen also, daß die Oberflächenspannung des unerwärmten Ferments sich nicht stark von der Oberflächenspannung des Wassers unterscheidet — besonders bei verdünnten Lösungen —; weiter, daß die Oberflächenspannung des erwärmten Ferments sehr stark herabsinkt und sich beim Stehen wieder spontan vergrößert.

Serie B.

Versuch 1.

1 %ige Taka-Diastase-Lösung; Volumen = 50 ccm: 3 Minuten im kochenden Wasserbad.

Oberflächenspannung	Tropfenzahl	$\frac{100 \cdot Z}{Zw}$	$\gamma = 7158{,}4s \frac{Zw}{Z}$	Zuckerbestimmung (Hydratation innerhalb 20 Min. bei gewöhnlicher Temp.; 1 ccm Ferment + 10 ccm 1 %ige Reisstärke)	Temp. des Versuchs
1. des Wassers	$54^1/_4$	—	—		21,5°
2. des unerwärmten Ferments	55	101,4	7061	19,7 ccm Fehl. Lös.	
3. gleich nach dem Erwärmen	$63^3/_4$	117,7	6079	1,0 „	
4. nach 5 stünd. Stehen .	63	116,1	6164	3,1 „	

Versuch 2.

$^{1}/_{2}$ %ige Taka-Diastase-Lösung; Volumen = 100 ccm; 3 Minuten im kochenden Wasserbad.

Oberflächenspannung	Tropfenzahl	$\frac{100 \cdot Z}{Zw}$	$\gamma = 7158{,}4_{8} \frac{Zw}{Z}$	Zuckerbestimmung (Hydratation innerhalb 20 Min. bei gewöhnlicher Temp.; 1 ccm Ferment + 10 ccm $^{1}/_{2}$ %ige Reisstärke)	Temp. des Versuchs
1. des Wassers	$54^{1}/_{4}$	—	—		
2. des unerwärmten Ferments	$54^{3}/_{4}$	101,2	7141	20,7 ccm Fehl. Lös.	21°
3. gleich nach dem Erwärmen	$63^{1}/_{2}$	117,1	6264	1,0 "	
4. nach $2^{1}/_{2}$ stünd. Stehen	62	114,3	6116	5,0 "	

Versuch 3.

$^{1}/_{4}$ %ige Taka-Diastase-Lösung; Volumen = 100 ccm während 4 Min. im kochenden Wasserbad.

Oberflächenspannung	Tropfenzahl	$\frac{100 \cdot Z}{Zw}$	$\gamma = 7158{,}4_{8} \frac{Zw}{Z}$	Zuckerbestimmung (Hydratation innerhalb 47 u. 90 Min. bei gewöhnl. Temp.; 1 ccm Ferment + 10 ccm $^{1}/_{2}$ %ige Reisstärke)	Temp. des Versuchs
1. des Wassers	$54^{1}/_{4}$	—	—		
2. des unerwärmten Ferments	$54^{1}/_{2}$	100,5	7099	18 ccm Fehl. Lös. (47′) 18 " (90′)	
3. gleich nach dem Erwärmen	58	106,9	6665	2,5 ccm (47′) 4,5 " (90′)	21°
4. nach 20 stünd. Stehen	$57^{1}/_{2}$	105,9	6723	4,5 " (47′) 7,5 " (90′)	
5. nach 48 stünd. Stehen	$57^{1}/_{2}$	105,7	6742	6,0 " (47′)	

Versuch 4.

$^{1}/_{4}$ %ige Taka-Diastase-Lösung; Volumen = 80 ccm; $2^{1}/_{2}$ Minuten im kochenden Wasserbad.

Oberflächenspannung	Tropfenzahl	$\frac{100 \cdot Z}{Zw}$	$\gamma = 7158{,}4_{8} \frac{Zw}{Z}$	Zuckerbestimmung (Hydratation bei gewöhnlicher Temp. während 6 u. 15 Min.; 1 ccm Ferment + 10 ccm $^{1}/_{2}$ %ige Reisstärke)	Temp. des Versuchs
1. des Wassers	$54^{1}/_{4}$	—	—		
2. des unerwärmten Ferments	$54^{1}/_{2}$	100,5	7099		
3. gleich nach dem Erwärmen	59	108,9	6552	3 ccm Fehl. Lös. (6′) 5 " (15′)	21°
4. nach 1 stünd. Stehen	56	103,2	6903	4 " (6′) 7 " (15′)	
5. nach $1^{3}/_{4}$ stünd. Stehen	55	101,4	7028	4,5 ccm (6′) 7,6 " (15′)	

Versuch 5.

$^1/_4$ %ige Taka-Diastase-Lösung; Volumen = 90 ccm; $2^1/_2$ Minuten im kochenden Wasserbad.

Oberflächenspannung	Tropfenzahl	$\frac{100 \cdot Z}{Zw}$	$\gamma = 7158{,}4_s \frac{Zw}{Z}$	Zuckerbestimmung (Hydratation bei gewöhnlicher Temp. während 40 Min.; 1 ccm Ferment + 10 ccm $^1/_2$ %ige Reisstärke)	Temp. des Versuchs
1. des Wassers	$54^1/_4$	—	—		20,5°
2. des unerwärmten Ferments	$54^1/_2$	100,5	7099	20,5 ccm Fehl. Lös.	
3. gleich nach dem Erwärmen	58	106,9	6664	3 ccm	
4. nach 24 stünd. Stehen (in der Kälte)	57	105,1	6799	9 „	

Versuch 6.

$^1/_2$ %ige Taka-Diastase-Lösung; Volumen = 50 ccm; 2 Minuten im kochenden Wasserbad.

Oberflächenspannung	Tropfenzahl	$\frac{100 \cdot Z}{Zw}$	$\gamma = 7158{,}4_s \frac{Zw}{Z}$	Zuckerbestimmung (Hydratation bei gewöhnlicher Temp. während 15 Min.; 1 ccm Ferment + 10 ccm $^1/_2$ %ige Reisstärke)	Temp. des Versuchs
1. des Wassers	$54^1/_4$	—	—		20,5°
2. des unerwärmten Ferments	$54^1/_2$	100,5	7099		
3. gleich nach dem Erwärmen	$58^1/_4$	107,4	6636	6,5 ccm Fehl. Lös.	
4. nach 1 stünd. Stehen .	$57^3/_4$	106,5	6694	7,5 „	

Versuch 7.

$^1/_4$ %ige Taka-Diastase-Lösung; Volumen = 100 ccm; 3 Minuten im kochenden Wasserbad.

Oberflächenspannung	Tropfenzahl	$\frac{100 \cdot Z}{Zw}$	$\gamma = 7158{,}4_s \frac{Zw}{Z}$	Zuckerbestimmung (Hydratation bei gewöhnlicher Temp. während 50 Min.; 1 ccm Ferment + 10 ccm $^1/_2$ %ige Reisstärke)	Temp. des Versuchs
1. des Wassers	$54^1/_4$	—	—		19,5°
2. des unerwärmten Ferments	$54^1/_2$	100,5	7099	15,0 ccm Fehl. Lös.	
3. gleich nach dem Erwärmen	56	103,2	6903	3,5 „	
4. nach 4 stünd. Stehen .	$55^1/_8$	101,6	7013	4,2 „	

Versuch 8.

$^1/_8$%ige Taka-Diastase-Lösung; Volumen = 100 ccm während 2, 5 und 20 Minuten im kochenden Wasserbad.

Oberflächenspannung	Tropfenzahl	$\frac{100 \cdot Z}{Zw}$	$\gamma = 7158{,}4_8 \frac{Zw}{Z}$	Zuckerbestimmung (Hydratation bei gewöhnlicher Temp. während 50 Min.; 1 ccm Ferment + 10 ccm $^1/_2$%ige Reisstärke)	Temp. des Versuchs
1. des Wassers	$54^1/_4$	—	—		19°
2. des unerwärmten Ferments	$54^1/_2$	100,5	7099	16 ccm Fehl. Lös.	
3. gleich nach dem Erwärmen u. Erkalten:					
erwärmt 2 Min. . . .	$56^1/_8$	103,4	6888		
5 „ . . .	$56^1/_8$	103,4	6888		
20 „ . . .	$56^1/_4$	103,7	6870		
4. nach 24 stünd. Stehen:					
erwärmt 2 Min. . . .	$55^1/_4$	101,8	6995	8,6 ccm	
5 „ . . .	$55^1/_2$	102,3	6965	Spuren	
20 „ . . .	$56^1/_8$	103,4	6888	0	

Aus den Versuchen der Serie B ergibt sich, daß die fermentativen Eigenschaften und die Oberflächenspannung der Lösung in engem Zusammenhang stehen, daß dem Grad und der Dauer der Erwärmung eine mehr oder weniger starke Geschwindigkeit der Vergrößerung der Oberflächenspannung und der Regeneration des Ferments entspricht.

Weiter haben wir einige andere kolloidale Flüssigkeiten in dieser Richtung, d. h. in Hinsicht der Reversibilität der Oberflächenspannung nach dem Erwärmen, zu prüfen versucht und — wie aus Serie C ersichtlich ist — in diesen Fällen nichts Analoges gesehen: entweder bleibt die Oberflächenspannung der Lösung nach dem Erwärmen unverändert, oder die durch das Erwärmen verminderte Oberflächenspannung zeigt keine Neigung zur spontanen Vergrößerung. Wenn es überhaupt nicht ausgeschlossen ist, daß ein solches eigenartiges Verhalten der Reversibilität der Oberflächenspannung noch andere kolloidale Lösungen zeigen können, muß man doch immer im Auge behalten, daß hierbei auch fermentative oder ähnliche (z. B. komplementierende) Eigenschaften der Kolloide eine entscheidende

Rolle spielen können, die parallel mit der Änderung der Oberflächenspannung der Lösung sich ändern; ein gutes Beispiel dazu bietet unser Versuch (s. unten Versuch 11) mit „Albumin aus Blut puriss. Merck", welches deutliche Reversibilität zeigte und dabei als Ferment betrachtet werden konnte.

Serie C.

Versuch 1.

$^1/_2$ %ige Reisstärke, bei beginnendem Sieden der Flüssigkeit bereitet. Temp. des Versuchs 20,5°.

Oberflächenspannung	Tropfenzahl
1. des Wassers	54
2. der unerwärmt. Stärkelösung	54 $^1/_4$
3. der 10 Min. an Bunsenflamme erwärmt. Stärkelösung	54 $^1/_4$

Versuch 2.

1 %ige Pepton aus Albumin (Merck). Temp. des Versuchs 20,5°.

Oberflächenspannung	Tropfenzahl
1. des Wassers	54
2. des unerwärmt. Peptons	70
3. des erwärmt. (bei 80° u. 98°) Peptons	70

Versuch 3.

1 %ige Lösung „Dextrinum purissimum". Temp. des Versuchs 20°.

Oberflächenspannung	Tropfenzahl
1. des Wassers	54 $^1/_4$
2. des unerwärmt. Dextrins	54 $^1/_4$
3. des erwärmt. (bei 90° 19') Dextrins	54 $^1/_4$

Versuch 4.

Kolloid. Platin (nach Bredig) erwärmt auf Wasserbad bis 80° und 97°. Temp. des Versuchs 20,5°.

Oberflächenspannung	Tropfenzahl
1. des Wassers	54
2. des koll. Platins, unerwärmt	54 $^1/_8$
3. des koll. Platins, erwärmt	54 $^1/_8$

Versuch 5.

$^1/_4$ %ige Gelatinelösung (bei 40° bereitet). Temp. des Versuchs 22°.

Oberflächenspannung	Tropfenzahl
1. des Wassers	54 $^1/_4$
2. der unerwärmt. Gelatine	58 $^1/_2$
3. der unerwärmt. (bis 90°) Gelatine	58 $^1/_2$

Versuch 6.

1 %ige Keratinlösung in $^1/_{10}$ % NaOH. Temp. des Versuchs 20°.

Oberflächenspannung	Tropfenzahl
1. des Wassers	54 $^1/_4$
2. des unerwärmt. Keratins	68
3. gleich nach Erwärmen (bis 70°)	70
4. nach 24 stünd. Stehen .	69 $^3/_4$

Versuch 7.

$^1/_2$ %ige Taka-Diastase-Lösg. in $^1/_2$ % NaOH. Temp. des Versuchs 20 %.

Oberflächenspannung	Tropfenzahl	
1. des Wassers . . .	54 $^1/_4$	Keine fermentativ. Eigenschaften.
2. des unerwärmten Ferments	58 $^1/_2$	
3. des (bis 80° und 97°) erwärmt. Ferments	58 $^1/_2$	

Versuch 8.

$^1/_2$ %ige Lösung v. Globulin (aus Rinderherz) in 0,1 % NaOH. Temp. des Versuchs 20,5°.

Oberflächenspannung	Tropfenzahl
1. des Wassers	54 $^1/_4$
2. des unerwärmten Globulins	63
3. des (bis 98°) erwärmten Globulins	63

Versuch 9.

$^1/_2$ %iges Albumin aus Eiern. Temp. des Versuchs 20,5°.

Oberflächenspannung	Tropfenzahl
1. des Wassers	54 $^1/_4$
2. des unerwärmten Albumins	55 $^1/_2$
3. des (bis 82° und 100°) erwärmten Albumin	55 $^1/_2$

Versuch 10.

$^1/_2$ %iges Albumin aus Blut (Merck) in 1 % NaOH und in 0,03 % NaOH; beide Lösungen sind bis 80° erwärmt. Temp. des Versuchs 22°.

Oberflächenspannung.	Tropfenzahl	
1. des Wassers	54 $^1/_4$	Keine fermentativen Eigenschaften.
2. des unerwärmten Albumins in 1 % NaOH	64 $^3/_4$	
3. des erwärmten Albumins in 1 % NaOH gleich nach Erwärmen . . .	70	
4. nach 24 stünd. Stehen	72	
5. des unerwärmten Albumins in 0,03 NaOH	55	
6. gleich nach Erwärmen	55 $^3/_4$	
7. nach 24 stünd. Stehen	55 $^3/_4$	

Versuch 11.

$^1/_2$ %iges Albumin aus Blut (Merck) in 0,01 % NaOH erwärmt während 10 Min. bis 90° auf Wasserbad. Temp. des Versuchs 21°.

Oberflächenspannung	Tropfenzahl	
1. des Wassers	54 $^1/_4$	Diastatische Eigenschaft. d. Lösungen.
2. des unerwärmten Albumins . .	55	
3. gleich nach Erwärmen	57 $^1/_2$	
4. nach 24 stünd. Stehen	56 $^1/_2$	

Was nun die Literatur der von uns angestellten Frage betrifft — nämlich der spontanen Regeneration des Ferments und der „spontanen Regeneration" der Oberflächenspannung —, so fehlt eine solche vollkommen.

Hier verdienten nur die Traubeschen Arbeiten erwähnt zu werden. Traube[1]) berichtet, daß, wenn man ein beliebiges Serum einige Zeit auf etwa 56° erhitzt, so sinkt die Oberflächenspannung der Lösung erheblich; wenn man dem inaktivierten Serum aktives Serum zusetzt, erfährt die Oberflächenspannung mit der Zeit wieder eine Vergrößerung; bei gelinder Erwärmung (auf etwa 40 bis 50°) wird der Prozeß von selbst rückgängig. Diese Ergebnisse hat Segale[2]) bestätigt; aber er hat auch (wie Traube?) nicht den Nachweis geführt, daß zwischen diesem Prozesse und der Komplementfunktion des Serums (was der Zweck der Untersuchung war) irgendwelche direkte Beziehung bestehe. Andere, z. B. fermentative Eigenschaften des Serums waren dabei nicht untersucht worden.

Auf Grund unserer Versuche kommen wir zu folgenden Resultaten: Der inaktive (resp. fast vollständig inaktive) Zustand des Ferments steht in engem Zusammenhang mit der Verminderung der Oberflächenspannung der fermentativen Lösung. Regeneriert nun das Ferment, so „regeneriert" auch die Oberflächenspannung; die Größe und die Dauer der Regeneration hängt von dem Grad und der Dauer der Erwärmung ab.

Es ist theoretisch wohl verständlich, daß die Größe der Oberflächenenergie für das Ferment als solches entschiedene Bedeutung haben muß, weil es kein Ferment gibt, das nicht kolloid wäre, d. h. dessen Eigenschaften nicht unbedingt mit der enormen Oberfläche der kolloidalen Teilchen verknüpft wären; sinkt nun die Oberflächenspannung herab resp. vermindert sich die gesamte Oberfläche und Oberflächenenergie, so sinken auch die fermentativen Eigenschaften der Lösung und umgekehrt.

Weiter, bei Verminderung der Oberfläche, d. h. beim Zusammenballen und bei zunehmender Größe der kolloidalen

[1]) Traube, diese Zeitschr. 1908.
[2]) Zit. nach Malys Jahresbericht 40, 1911.

Teilchen, können auch andere Faktoren mitspielen, z. B. Verminderung bis zur Aufhebung der Brownschen Bewegung[1]). In dieser Hinsicht ist hier die Arbeit von Russo[2]) zu erwähnen, der unmittelbar im Ultramikroskop die Aufhebung der Brownschen Bewegung in inaktiver Pepsinsäure beobachtete.

Wir sind fern von dem Gedanken, das Verschwinden und die Regeneration des Ferments in der Lösung ausschließlich auf Grund der konstatierten mikrophysikalischen Veränderung seines Zustandes zu erklären; dabei können vielleicht auch rein chemische — reversible und irreversible — Reaktionen in der fermentativen Lösung eine Rolle spielen; unsere Untersuchungen lassen weiterhin die wichtige Frage von der Spezifität des Ferments unberührt; nichtsdestoweniger aber behaupten wir, daß bei Prozessen der Inaktivierung und der Regeneration des Ferments die Oberflächenenergie an und für sich eine sehr große Bedeutung hat und unsere Vorstellungen über die Wirkungsart der Fermente klarer macht.

---

1) Freundlich, Capillarchemie 1909.

2) Russo, Arch. Ital. d. Biol. 18, 1913.

Über Lipasen im Inhalte von Pankreascysten.

Von

Konrad Bournot.

(Aus dem Pharmakologischen Institut der Universität Leipzig.)

(Eingegangen am 20. Mai 1913.)

Über die Fermente des Inhaltes von Pankreascysten ist wohl in der neueren chirurgischen Literatur häufig berichtet worden. Doch handelte es sich hierbei nur um die qualitative Ermittlung und Untersuchung der Enzyme. In der biologisch-chemischen Literatur fand ich nur eine kurze Mitteilung über die fettspaltende Wirkung einer Cystenflüssigkeit. Herter[1]) beobachtete, daß durch dieselbe von 0,9 g Olivenöl 0,13 g Ölsäure binnen 4 Stunden abgespalten wurden.

Durch Herrn Geheimrat Professor Dr. Payr wurden dem Leipziger Pharmakologischen Institut im Jahre 1912 zweimal relativ große Mengen des frischen, operativ entleerten Inhalts von Pankreascysten zur Verfügung gestellt. Die Untersuchung dieses relativ seltenen Materials, die mir von Professor R. Boehm übertragen wurde, bot die Gelegenheit, das Verhalten animalischer und vegetabilischer Lipasen auch in quantitativer und kinetischer Hinsicht genauer miteinander zu vergleichen.

Bezüglich der Literatur über die Pankreaslipase kann auf das Buch von Oppenheimer[2]) verwiesen werden.

Am 16. III. 1912 erhielt das Pharmakologische Institut ca. 2 l einer Pankreas-Cystenflüssigkeit von gelber bis schwachroter Farbe. Die Flüssigkeit wurde sofort in kleine Kölbchen (100 ccm) abgefüllt, mit Toluol, Thymol oder Chloroform ver-

[1]) Zeitschr. f. physiol. Chem. 4, 160.

[2]) Oppenheimer, Die Fermente und ihre Wirkungen. 2. Aufl. Leipzig 1910.

setzt und über Eis aufbewahrt. Nach 2 Tagen hatte sich ein kleiner Bodensatz von roten Blutkörperchen gebildet. Sämtliche Untersuchungen wurden mit der überstehenden, gelblichen Flüssigkeit gemacht, die klar abgegossen oder wenn nötig filtriert wurde. Sie zeigte amphotere Reaktion, trübte sich beim Kochen unter starkem Schäumen ein wenig und gab nach Zusatz von Salpetersäure einen weißen flockigen Niederschlag. Mit Millons Reagens trat Rotfärbung nicht auf, dagegen fiel die Biuretprobe positiv aus. Fehlingsche Lösung wurde weder in der Kälte noch in der Wärme verändert.

Der Trockenrückstand — bei 100° getrocknet — betrug 1,23 bis 1,25 %, der Aschengehalt 0,814 %. Mit dem Trockenrückstand wurde eine Stickstoffbestimmung nach Kjeldahl gemacht. Der Stickstoffgehalt betrug 6,44 % des Trockenrückstandes entsprechend 0,079 % der Cystenflüssigkeit.

1. Allgemeines über die Wirksamkeit der Cystenlipase unter verschiedenen Bedingungen.

Proteolytische Fermente konnten nicht nachgewiesen werden; dagegen zeigten Vorversuche die Gegenwart von Lipase an. Die 5 Minuten lang auf 100° erhitzte Cystenflüssigkeit hatte keine lipolytischen Eigenschaften mehr.

Die Cystenflüssigkeit ließ sich durch Filtrierpapier, nicht aber durch Berkefeld-Filter filtrieren, ohne an Wirksamkeit zu verlieren.

Da Öl und Cystenflüssigkeit auch nach längerem Schütteln keine haltbare Emulsion bildeten, war öfteres oder andauerndes Schütteln für eine gute Verseifung erforderlich.

$^n/_{10}$-Essigsäure wie ein geringer Überschuß von Alkali verhindern die Fettspaltung; $^n/_{20}$-$CaCl_2$-Lösung ist ohne großen Einfluß.

Da die lipolytische Wirkung der Cystenflüssigkeit allmählich nachließ, wurde letztere in kleinen Portionen im Vakuum bei Zimmertemperatur eingetrocknet. Der auf diese Weise erhaltene braune Rückstand ließ sich zu einem Pulver verreiben, das seine fettspaltende Wirkung Monate lang unverändert beibehielt. Dasselbe gab mit Wasser eine trübe Lösung, die bei längerem Stehen absetzte.

Folgender Versuch zeigt, daß Öl und Wasser, im Verhältnis 1:1 gemischt, die beste Verseifung ergeben.

Je 0,01 g Cystenrückstand, in wechselnden Mengen Wasser gelöst, werden mit je 1,0 g Cottonöl 4 Stunden lang geschüttelt.

Wasser ccm	Verbrauchte n/10-NaOH ccm	Verseiftes Öl %
0,1	0,40	1,05
0,5	4,37	11,56
1,0	5,84	14,18
2,0	4,86	12,85
3,0	3,30	10,99

Es wurden ferner die günstigsten Bedingungen für die Estersynthese festgestellt. Diese sind 0,05 g Enzym (trockener Rückstand der Cystenflüssigkeit), 0,2 g Wasser auf 0,5 g Ölsäure und Glycerin im Überschuß (0,5 g).

Tabelle O.

Zeit	Trockener Cystenrückstand g	Verwendete Ölsäure (käufl.) g	Glycerin g	Wasser g	Verbrauchte n/10-NaOH ccm	Gebundene Ölsäure %	
18 Tage	0,10	0,904	0,23	0,0	28,51	7,41	3mal täglich geschüttelt.
10 „	0,10	0,502	0,50	0,2	15,42	9,77	
15 Std.	0,05	0,500	0,50	0,0	15,83	6,99	Andauernd geschüttelt.
15 „	0,05	0,505	0,50	0,5	15,92	7,44	
15 „	0,05	0,497	0,50	0,1	15,15	10,46	
15 „	0,05	0,500	0,50	0,3	15,60	10,99	
15 „	0,05	0,503	0,50	0,2	15,15	11,56	
10 Tage	0,05	0,594	0,50	0,2	14,86	26,50	

Mit dem Mikroskop läßt sich folgendes beobachten. (Das Pulver wird mit einem Tropfen Cottonöl gut verrieben und auf die Unterseite eines Deckgläschens gebracht, das auf einer feuchten Kammer liegt.) Sowie man etwas Wasser in die Kammer bringt, fangen die im Öl verteilten Enzymteilchen unter dem Einfluß des Wasserdampfes an zu quellen. Es entstehen am Rande der festen Teilchen kleine Blasen, die sich stark vergrößern und allmählich Myelinformen annehmen, bis schließlich die Masse undurchsichtig wird. Wir haben es hier wahrscheinlich mit einer Verteilung von Wasser in Öl, also mit einer umgekehrten Emulsion zu tun, wie sie Jalander[1]) bei der Fettspaltung durch Ricinuslipase beobachtet hat. Nur

[1]) Diese Zeitschr. 36, 437.

erfolgt in unserem Falle die Quellung schneller und ohne Zusatz von Säure.

2. Enzym und Substrat unter verschiedenen Konzentrationsbedingungen.

a) Versuche mit der Flüssigkeit.

Bei geringen Enzymmengen (0,05 bis 0,2 ccm Cystenflüssigkeit) besteht im Verlaufe von 1 bis 2 Stunden direkte Proportionalität zwischen Enzym und verseiftem Öl. Für größere Enzymmengen gilt teils die Schützsche Regel, teils geben die mittels der logarithmischen Kurve aus der Gleichung $k = \frac{X}{E^m}$ berechneten Konstanten bessere Werte.

Tabelle I.

Je 1,0 g Cottonöl, variierende Mengen Cystenflüssigkeit, Wasser q. s. ad 3,0 ccm Gesamtflüssigkeit werden bei 38° 1 Stunde lang geschüttelt.

E Cysten-flüssigkeit ccm	Verbrauchte $^n/_{10}$-NaOH ccm	X Verseiftes Öl %	$\frac{X}{E}$	$m = 0,45$ $\frac{X}{E^m}$	$\frac{X}{\sqrt{E}}$
0,05	0,40	1,02	20,4	3,98	4,56
0,10	0,77	2,04	20,4	5,75	6,45
0,20	1,54	4,07	20,4	8,40	9,10
0,40	2,21	5,85	14,6	8,84	9,25
0,80	2,69	7,13	8,9	7,88	7,97
1,60	3,85	10,18	9,4	8,24	8,04
2,40	3,94	10,44	7,4	7,04	6,74
3,20	4,33	11,45	3,6	6,78	6,40
4,40	4,43	14,71	2,7	6,01	5,58

Tabelle II.

Je 1,0 g Triolein, variierende Mengen Cystenflüssigkeit, Wasser q. s. ad 3,0 ccm Gesamtflüssigkeit werden bei 38° 2 Stunden lang geschüttelt.

E Cysten-flüssigkeit ccm	Verbrauchte $^n/_{10}$-NaOH ccm	X Verseiftes Triolein %	$\frac{X}{E}$	$\frac{X}{\sqrt{E}}$
0,05	0,19	0,58	11,6	2,59
0,10	0,48	1,27	12,7	4,02
0,20	0,67	2,93	10,2	4,54
0,40	2,11	6,38	15,9	10,1
0,80	3,75	11,32	14,2	12,7
1,60	5,10	15,09	9,9	12,2
2,40	5,96	18,00	7,5	11,6
3,20	7,89	23,80	7,4	13,3
4,80	8,17	24,67	5,1	11,3

Tabelle IIa.

Je 1,0 g Cottonöl, verschiedene Mengen Cystenflüssigkeit, Wasser q. s. ad 4 ccm Gesamtflüssigkeit werden bei 38° $^1/_2$ Stunde lang geschüttelt.

E Cystenflüssigkeit ccm	Verbrauchte $^n/_{10}$-NaOH ccm	*X* Verseiftes Öl %	$\frac{X}{\sqrt{E}}$
0,5	1,54	4,07	5,75
1,0	3,10	8,10	8,10
2,0	3,37	8,91	6,30
3,0	3,56	9,42	5,44
6,0	4,81	12,73	5,20

b) Versuche mit dem trockenen Rückstand der Cystenflüssigkeit.

Direkte Proportionalität zwischen Ferment und verseiftem Substrat besteht nur in den seltensten Fällen bei ganz geringen Enzymmengen. Teilweise läßt sich die Arrheniussche Formel oder die Schützsche Regel verwenden.

Tabelle III.

Zirka 1,0 g Cottonöl, 1,0 g Wasser, verschiedene Mengen trockener Cystenrückstand werden bei 38° andauernd geschüttelt (1 bis 48 Std.).

E Cystenpulver g	*t* Zeit Std.	Verwendete Menge Cottonöl g	Verbrauchte $^n/_{10}$-NaOH ccm	*X* Verseiftes Öl %	$\frac{100}{t} \log \frac{a}{a-X}$	$\frac{X}{\sqrt{Et}}$	Arrhenius-Formel
0,001	1	0,925	0,30	0,86	0,38	27,2	8,0
0,005		0,948	1,50	4,17	2,32	59,0	18,0
0,010		0,968	2,24	6,13	2,77	61,3	20,1
0,050		1,000	2,80	7,41	3,36	33,1	6,0
0,001	3	0,898	0,65	1,93	0,29	35,2	9,0
0,005		0,934	2,15	6,09	0,92	49,7	13,1
0,010		1,038	4,77	12,15	1,89	70,2	27,0
0,050		0,919	4,21	12,11	1,88	31,3	5,4
0,001	8	0,867	1,40	4,27	0,25	47,8	13,1
0,005		0,913	3,55	10,29	0,59	51,5	14,5
0,010		0,937	5,80	16,36	0,97	57,3	18,9
0,050		0,806	5,33	17,49	1,05	27,7	5,6
0,001	24	0,917	1,78	5,12	0,09	33,2	5,4
0,005		0,900	6,35	18,68	0,37	53,9	16,7
0,010		0,953	9,25	25,68	0,54	52,3	16,7
0,050		0,937	12,24	34,57	0,77	31,6	6,5
0,001	48	0,917	1,78	5,12	—	23,4	2,7
0,005		0,913	7,10	20,56	—	42,0	10,3
0,010		0,904	10,47	30,63	—	44,2	12,5
0,050	44	1,128	18,04	42,32	—	28,5	5,8

Aus Tabelle III kann man die Wirkung verschiedener Enzymkonzentrationen in verschiedenen Zeiten entnehmen. Es zeigt sich auch hier, daß die gefundenen Gesetzmäßigkeiten Funktionen der verschiedenen Reaktionsstadien sind und nur empirische Bedeutung haben können.

Tabelle IV.

Je 1,0 g Cottonöl, 1,0 g Wasser werden mit wechselnden Enzymmengen 1 Stunde lang bei 38° geschüttelt.

E Trockenes Enzym g	Verbrauchte $^n/_{10}$-NaOH ccm	X Verseiftes Öl %	$\frac{X}{\sqrt{E}}$	Arrhenius-Formel
0,001	0,78	2,06	64,99	12,0
0,002	1,26	3,34	74,66	22,5
0,003	1,65	4,37	79,71	32,3
0,004	1,84	4,88	77,17	29,4
0,005	2,00	5,29	74,81	33,2
0,006	2,14	5,65	72,95	29,2
0,009	2,23	5,91	62,27	21,3

3. Geschwindigkeitsmessungen.

a) Versuche mit der unveränderten Cystenflüssigkeit.

Bei allen Versuchen mit der Cystenflüssigkeit selbst ist zu berücksichtigen, daß ihre lipolytische Wirkung mit der Zeit geringer wurde. Infolgedessen können die meisten Versuchsreihen nicht direkt miteinander verglichen werden. Als Substrat wurden Cottonöl, Olivenöl und Triolein verwendet. Dem Olivenöl wurde in einem Falle die zur Neutralisation der freien Säuren erforderliche Menge Alkali zugesetzt.

Das Maximum der Verseifung, das erreicht wurde, betrug für Cottonöl 44,02% in 105 Stunden, für Triolein 63% in 96 Stunden bei andauerndem Schütteln.

Wenn auch verhältnismäßig große Versuchsfehler vorkommen, so kann man doch bei allen Versuchen einen bestimmten Gang des Reaktionsverlaufes verfolgen. Die Anfangsgeschwindigkeit ist verhältnismäßig groß, dann verläuft der Prozeß immer langsamer — wir haben es ungefähr mit einem gleichförmig verzögerten Vorgang zu tun; der Wert der nach den Formeln von Schütz oder Arrhenius berechneten Konstanten nimmt bis zur ersten oder zweiten Stunde zu, bleibt

dann eine Zeitlang derselbe, um schließlich nach und nach zu fallen.

Die Ursache liegt — neben dem wahrscheinlich stufenweise erfolgenden Verlauf — wohl darin, daß die lipolytische Wirksamkeit der Cystenflüssigkeit mit der Zeit nachläßt.

Ein hemmender Einfluß der Reaktionsprodukte kommt weniger in Betracht, da die Cystenlipase auch den umgekehrten Vorgang, die Synthese, ermöglicht.

Tabelle V.

Je 1,0 g Cottonöl, 2,0 ccm Cystenflüssigkeit werden bei 35° andauernd geschüttelt.

t Zeit in Minuten	Verbrauchte $^n/_{10}$-NaOH ccm	X Verseiftes Öl %	$\frac{100}{t} \log \frac{a}{a-X}$	$\frac{X}{\sqrt{t}}$	Arrhenius-Formel[1])
45	3,3	8,7	0,0882	1,30	0,26
60	3,8	10,2	0,0783	1,32	0,28
120	5,8	15,1	0,0595	1,38	0,32
240	7,6	20,0	0,0405	1,29	0,29
360	9,2	24,3	0,0339	1,29	0,29
480	10,0	26,5	0,0280	1,21	0,27
600	9,8	26,0	0,0219	1,06	—
780	11,4	30,3	0,0202	1,08	0,22
840	11,4	30,3	0,0187	1,05	—

Tabelle VI.

Je 1,0 g Cottonöl und 2,0 ccm Cystenflüssigkeit werden bei 38° dauernd geschüttelt.

t Zeit in Minuten	Verbrauchte $^n/_{10}$-NaOH ccm	X Verseiftes Öl %	$\frac{100}{t} \log \frac{a}{a-X}$	$\frac{X}{\sqrt{t}}$	Arrhenius-Formel
15	1,92	5,1	0,1526	1,32	0,25
30	3,1	8,1	0,1230	1,48	0,35
60	4,1	10,9	0,0840	1,41	0,32
120	6,5	17,2	0,0686	1,57	0,42
240	8,6	22,8	0,0470	1,47	0,39
360	9,3	24,6	0,0342	1,30	0,30
600	11,9	31,5	0,0275	1,29	0,32
840	12,5	33,1	0,0208	1,14	0,35

[1]) Für t wurde in der Arrheniusschen Formel immer der Stundenwert eingesetzt und berechnet.

Tabelle VII.

Je 1,0 g Olivenöl, 0,4 ccm $^{n}/_{10}$-NaOH [1]), 2,0 ccm Cystenflüssigkeit werden stündlich einmal bei 38° geschüttelt.

t Zeit in Minuten	Verbrauchte $^{n}/_{10}$-NaOH ccm	X Verseiftes Öl %	$\frac{100}{t} \log \frac{a}{a-X}$	$\frac{X}{\sqrt{t}}$	Arrhenius-Formel
30	3,4	9,88	0,1507	1,80	0,53
60	5,0	14,36	0,1122	1,85	0,52
90	5,4	15,70	0,0824	1,66	0,46
120	6,7	19,47	0,0775	1,78	0,54
180	7,7	22,24	0,0606	1,66	0,49
240	8,0	23,25	0,0478	1,50	0,40
360	8,6	25,00	0,0347	1,32	0,31
420	9,0	26,16	0,0314	1,23	0,30
960	10,68	31,04	0,0169	1,00	0,19
1200	11,54	33,55	0,0153	0,97	0,18
1440	12,03	34,96	0,0123	0,92	0,17
5700	15,01	43,62	0,0044	0,58	—

Tabelle VIII.

Je 1,0 g Triolein und 2,0 ccm Cystenflüssigkeit (11 Tage alt) werden bei 38° dauernd geschüttelt.

t Zeit in Minuten	Verbrauchte $^{n}/_{10}$-NaOH ccm	X Verseiftes Triolein %	$\frac{100}{t} \log \frac{a}{a-X}$	X_1 Durchschnittswerte von X %	$\frac{X_1}{\sqrt{t}}$	Arrhenius-Formel
30	0,96	2,90	0,0427	2,90	0,53	0,05
60	2,41	7,26	0,0545	} 6,53	0,85	0,12
60	1,92	5,79	0,0432			
120	3,46	10,44	0,0399	} 10,44	0,95	0,14
120	3,46	10,44	0,0399			
180	5,84	15,96	0,0429	15,96	1,19	0,24
240	5,87	17,71	0,0358	17,71	1,14	0,22
360	5,96	18,00	0,0239	} 24,38	1,28	0,30
360	10,20	30,77	0,0443			
480	7,89	23,80	0,0245	} 24,53	1,12	0,23
480	8,37	25,25	0,0263			
600	8,18	24,67	0,0205	} 28,59	1,16	0,25
600	10,77	32,51	0,0284			
780	9,81	29,59	0,0195	} 32,04	1,15	0,25
780	10,10	34,48	0,0235			
1080	9,91	29,89	0,0143	} 32,07	1,02	0,18
1080	11,35	34,25	0,0168			
2640	15,87	47,90	0,0107	47,90	0,93	0,20
4320	17,89	53,99	0,0078	53,99	0,82	0,17
5760	20,87	63,00	0,0074	(hier wurden 3,0 ccm Cystenflüssigkeit verwendet)		

[1]) Die Menge $^{n}/_{10}$-NaOH genügte gerade zur Neutralisation des Olivenöls.

b) Versuche mit dem gepulverten Rückstand der Cystenflüssigkeit.

Die Versuche mit der trockenen Cystenlipase ergaben etwas besser untereinander übereinstimmende Werte. Im allgemeinen gilt dasselbe, was für die Flüssigkeit gesagt worden war. Die nach der Gleichung $k = \frac{X}{t^m}$, wo $m = 0{,}38$ und $0{,}42$ wird, berechneten Werte sind annähernd konstant. Auch die Arrheniussche Formel ist ganz gut anwendbar.

Das Maximum der Trioleinhydrolyse betrug 81,5 % in 192 Stunden bei andauerndem Schütteln.

Tabelle IX.

Zirka 1,0 g Cottonöl, 0,8 ccm Wasser, 0,05 g trockener Cystenrückstand *E* werden bei 38° dauernd geschüttelt.

t Zeit in Std.	Verwendetes Cottonöl g	Verbrauchte $^n/_{10}$-NaOH ccm	X Verseiftes Öl %	$\frac{100}{t} \log \frac{a}{a-X}$	$\frac{X}{\sqrt{E \cdot t}}$	Arrhenius-Formel	$m = 0{,}42$ $\frac{X}{t^m}$
1	1,0	2,80	7,41	3,35	33,1	6,04	7,41
3	0,920	4,21	12,11	1,87	31,3	5,4	7,63
8	0,806	5,33	17,49	1,04	27,7	4,3	7,30
17	0,900	10,28	30,22	0,92	32,8	6,7	9,19
24	0,937	12,24	34,57	0,77	31,6	6,5	9,10
44	1,128	18,04	42,32	0,54	28,5	5,8	8,63
66	0,975	18,32	49,70	0,45	27,4	5,8	8,55
96	1,031	22,05	56,60	0,37	25,8	5,6	8,32
216	1,113	28,41	67,54	0,22	20,6	4,2	—

Tabelle X.

Je 0,05 g trockener Cystenrückstand, 0,8 ccm Wasser, ca. 0,8 g Triolein werden bei 38° dauernd geschüttelt.

t Zeit in Std.	Verwendetes Triolein g	Verbrauchte $^n/_{10}$-NaOH ccm	X Verseiftes Triolein %	$\frac{100}{t} \log \frac{a}{a-X}$	$\frac{X}{\sqrt{t}}$	Arrhenius-Formel	$m = 0{,}38$ $\frac{X}{t^m}$
1	0,750	2,24	9,02	4,00	9,02	8,4	9,55
2	0,893	3,83	12,94	3,01	9,15	9,2	9,92
5	0,814	4,95	18,36	1,76	8,21	7,7	9,84
10	0,772	6,54	25,57	1,28	8,09	7,9	10,1
24	0,760	10,84	42,35	1,00	8,64	10,6	10,7
48	0,790	14,67	54,31	0,71	7,84	10,0	10,6
72	0,796	16,17	61,27	0,57	7,22	9,4	10,4
96	0,928	20,93	68,06	0,52	6,95	9,6	10,4
144	0,746	18,69	75,60	0,44	6,30	9,1	10,2
192	0,730	19,72	81,50	0,38	5,88	9,1	10,0

4. Zeitlicher Verlauf der Synthese aus Ölsäure und Glycerin.

Tabelle XI zeigt den zeitlichen Verlauf der Synthese aus Ölsäure und Glycerin unter den in Abschnitt 1 festgestellten Bedingungen hierfür. Der Quotient $\frac{x}{\sqrt{t}}$ variiert zwischen 2,2 und 1,4, wenn man von den Messungen nach den ersten beiden Stunden absieht. Es wurden bis 25 % Ölsäure innerhalb 136 Stunden gebunden. Da eine weitere Steigerung auch nach 30 Tagen nicht zu beobachten war, sind 25 % als das Maximum der Synthese anzusehen.

Aus dem folgenden Kontrollversuch ist ersichtlich, daß die Veresterung von Ölsäure und Glycerin **ohne Enzym** bei denselben Bedingungen nicht erfolgt.

0,403 g Ölsäure, 0,41 g Glycerin, 0,2 g Wasser werden 26 Tage lang 3 mal täglich geschüttelt.

Verbrauchte n/10-NaOH . . . . . 13,47 ccm
Gebundene Ölsäure . . . . 1,44 %.

Tabelle XI.

0,05 g Cystenrückstand, ca. 0,5 g Ölsäure, 0,5 g Glycerin, 0,2 g Wasser werden andauernd geschüttelt. Temperatur 39°.

Zeit in Stunden	Ölsäure g	Anfangs-titer	Verbrauchte n/10-NaOH ccm	Gebundene Ölsäure %	$\frac{x}{\sqrt{t}}$
1	0,507	17,09	16,54	3,37	3,37
2	0,513	17,29	16,45	4,86	3,44
6	0,571	19,23	18,32	4,73	1,93
9	0,427	14,39	13,55	5,84	1,95
15	0,462	15,59	14,58	6,30	1,63
18	0,680	22,91	21,40	6,59	1,55
23	0,480	16,17	15,05	6,93	1,44
24	0,442	14,89	13,36	10,82	2,10
42	0,512	17,25	15,23	11,13	1,72
64	0,430	14,49	12,24	15,53	1,94
96	0,523	17,62	13,93	20,94	2,14
136	0,487	16,41	12,15	25,96	2,23
192	0,516	17,57	13,27	24,48	1,77
240	0,594	20,22	14,86	26,50	1,71

Über die zweite Pankreas-Cystenflüssigkeit.

Im Oktober 1912 wurden dem Pharmakologischen Institut noch einmal 300 ccm einer Flüssigkeit aus einer anderen Pankreascyste zur Verfügung gestellt. Die Voruntersuchung ergab

daß die schwach alkalische Flüssigkeit stärkemehl-, glykogen- und fettspaltende Fermente enthielt. Durch Eintrocknen eines Teiles des Materials im Vakuum bei 20° wurden 3,1 g Trockenrückstand (ca. 1 %) erhalten, die zu einigen ergänzenden Versuchen dienten.

Vergleicht man die folgenden Resultate mit denen, die bei der Untersuchung der ersten Cystenflüssigkeit erhalten wurden, so ist ersichtlich, daß die zweite bedeutend stärkere lypolytische Wirkungen hatte als die erste.

Aus Tabelle A ist die Wirksamkeit verschiedener Mengen des trockenen Cystenrückstandes auf Cottonöl ersichtlich, und zwar ist sie noch einmal so groß wie die des Rückstandes der ersten Cystenflüssigkeit. Es besteht auch hier direkte Proportionalität zwischen Enzymmenge und verseiftem Öl bei geringen Konzentrationen.

Tabelle A.

Je 1,0 g Cottonöl, 1,0 g Wasser, 0,005 bis 0,1 g trockener Cystenrückstand werden bei 39° 2 Stunden lang andauernd geschüttelt.

E Enzym g	Verbrauchte $^n/_{10}$-NaOH ccm	X Verseiftes Öl %	$\frac{X}{\sqrt{E}}$	$\frac{X}{E}$
0,005	1,84	4,88	69,0	976
0,01	3,52	9,30	93,0	930
0,02	7,25	19,19	136,0	959
0,04	7,25	19,19	95,9	479
0,05	7,58	20,06	89,9	401
0,08	10,01	26,75	94,6	334
0,10	10,22	27,04	85,5	270

Über den zeitlichen Verlauf der Hydrolyse von Cottonöl und Triolein geben die nächsten zwei Tabellen Aufschluß (B und C). Vergleicht man dieselben mit den analogen Versuchsreihen der Tabellen IX und X, so ist in jenen ein stark abnehmender Gang der nach Schütz berechneten Konstanten zu erkennen, während dieselbe in Tabellen IX und X verhältnismäßig gut übereinstimmende Werte ergibt. In der Formel $k = \frac{X}{t^m}$ wird m sehr klein ($m = 0,28$ [Tab. C], $m = 0.37$ [Tab. X]).

Im Maximum werden in 11 Tagen 93,5 % Triolein verseift.

Tabelle B.

Je 1,0 g Cottonöl, 1,0 g Wasser, 0,05 g trockener Cystenrückstand werden bei 38° dauernd geschüttelt.

t Zeit in Stunden	Verbrauchte $^{n}/_{10}$-NaOH ccm	X Verseiftes Öl %	$\frac{X}{\sqrt{t}}$	Arrhenius-Formel
1	5,38	14,25	14,3	22,8
2,25	8,24	21,81	14,5	24,7
5	11,98	31,69	14,2	25,6
8	13,74	36,34	12,8	22,8
24	18,24	48,17	9,85	14,8
48	22,09	58,44	8,44	12,4
72	25,94	68,62	8,09	13,2
360	33,63	88,96	—	4,1

Tabelle C.

Je 1,0 g Triolein, 1,0 g Wasser, 0,025 g trockener Cystenrückstand werden bei 38° andauernd geschüttelt.

t Zeit in Stunden	Verbrauchte $^{n}/_{10}$-NaOH ccm	X Verseiftes Triolein %	$\frac{X}{\sqrt{t}}$	$m = 0,28$ $\frac{X}{t^m}$
1	5,80	17,50	17,50	17,5
2	7,69	23,21	16,40	19,1
4	9,56	28,84	14,40	19,6
6	10,66	32,17	13,10	19,5
11	12,42	37,47	11,30	19,2
16	13,30	40,14	10,00	18,5
23	14,51	43,77	9,13	18,2
32	16,27	49,08	8,68	18,6
56	18,69	56,36	7,53	18,3
99	21,98	66,32	6,67	18,3
264	33,99	98,50	(in diesem Versuche wurden 0,07 g Cystenrückstand verwendet)	

Tabelle D.

Zirka 0,5 g reinste Ölsäure, 0,6 g Glycerin, 0,2 g Wasser, 0,05 g Cystenrückstand wurden bei 38° dauernd geschüttelt.

Zeit in Tagen	Verwendete Ölsäure g	Verbrauchte $^{n}/_{10}$-NaOH ccm	Gebundene Ölsäure %
1	0,508	16,27	11,70
2	0,500	12,81	33,90
3	0,535	11,21	42,22
11	0,585	12,31	41,92

Tabelle D enthält einige synthetische Versuche mit Ölsäure und Glycerin als Substrat, aus denen ebenfalls die stärkere enzymatische Wirksamkeit des zweiten Cystenrückstandes hervorgeht.

Es wurden im Maximum bis 41,92 % Ölsäure in 11 Tagen gebunden.

Bekanntlich ist das Pankreasferment häufig zur Spaltung einfacher Ester verwendet worden. Infolgedessen habe ich mit dem Cystenrückstand einige entsprechende Versuche angestellt, die erkennen ließen, daß die esterspaltende Fähigkeit der vorliegenden Flüssigkeit außerordentlich gering ist. Essigester wurde in 24 Stunden fast gar nicht, Isovaleriansäure-Äthylester bis 1,04 %, Isobuttersäure-Äthylester bis 1,16 %, Buttersäure-Amylester bis 2,47 % gespalten. Erst die Ester von sehr hohem Molekulargewicht, wie Ölsäure-Isobutylester, waren bis ca. 15 % hydrolysierbar. Desgleichen war auch die esterbildende Eigenschaft des Cystenpulvers für einwertige Ölsäureester zwar vorhanden, aber sehr gering (vgl. Tabelle E).

Tabelle E.

Je 0,05 g trockener Cystenrückstand werden mit dem Ölsäure-Alkoholgemisch dauernd geschüttelt.

Zeit in Stunden	Verwendete Ölsäure (käufl.) g	Alkohol	Verbrauchte $^n/_{10}$-NaOH ccm	Gebundene Säure %
2	0,505	0,25 ccm Isobutylalkohol	16,60	3,46
24	0,497	0,25 „ „	15,50	8,44
22	0,500	0,25 „ Amylalkohol	15,17	10,91
22	0,510	0,25 „ Methylalkohol	15,71	9,50

Besprechung der Versuchsergebnisse und Vergleich des Enzyms mit anderen Lipasen. (Chelidonium- und Pankreaslipase.)

In der vorliegenden Arbeit, zu der nur eine begrenzte Menge Material vorlag, wurde vor allem Wert gelegt auf das Studium:

1. der Konzentrationsverhältnisse zwischen Enzym und Substrat,

2. der Reaktionsgeschwindigkeiten,

3. des erreichbaren Maximums der Triolein- bzw. Fetthydrolyse und Synthese.

Die Versuche erfolgten fast alle unter den einfachsten Bedingungen ohne jegliche Zusätze, die die Ergebnisse in irgendeiner Weise hätten beeinflussen können. Enzym, Wasser und Substrat wurden zusammengegeben und andauernd geschüttelt, um die Nachteile des heterogenen Gemisches möglichst zu vermeiden. Derartige Versuche mit Pankreaslipase und Neutralfetten bzw. Triolein als Substrat sind bisher noch nicht angestellt worden.

Betrachten wir zunächst die Versuche mit verschiedenen Enzymkonzentrationen — die Substratmengen bleiben immer dieselben. Es ist ohne weiteres ersichtlich, daß die Resultate nicht allein von den absoluten Enzymmengen, sondern auch

1. von dem relativen, während der Reaktion selbst sich ändernden Verhältnis zwischen Enzym und Substrat,

2. von der Reaktionsdauer abhängig sind.

Wir finden direkte Proportionalität zwischen Enzymmenge und verseiftem Öl

1. bei sehr kleinen Versuchszeiten ($^1/_2$ Stunde) und mittleren Enzymmengen (Tabelle II a),

2. bei etwas längeren Versuchszeiten (1 bis 2 Stunden) und kleineren Enzymmengen (Tabelle I und II).

Dieselbe Gesetzmäßigkeit findet sich nicht bei größeren Enzymmengen einerseits und langen Versuchszeiten andererseits. Es läßt sich zwar innerhalb gewisser Grenzen die Schützsche Regel anwenden; im allgemeinen gilt aber nur, daß von einem bestimmten Punkte an die Wirkung mit steigender Enzymkonzentration verhältnismäßig stark abnimmt.

Wir haben es hier also mit Verhältnissen ähnlich denen der Chelidoniumlipase zu tun, und es mag darum auf deren Besprechung in der vorhergehenden Abhandlung verwiesen werden. Die voneinander abweichenden Gesetzmäßigkeiten der Versuchsergebnisse sind bedingt durch die verschiedenen Reaktionsstadien, die vorliegen.

Eben diese Tatsache kommt noch mehr zum Ausdruck in den Versuchsreihen, die den zeitlichen Verlauf der Hydrolyse betreffen. Auch hier gilt im wesentlichen dasselbe, was bei der Chelidoniumlipase beobachtet wurde; doch kommen noch einige Momente hinzu, die besonders berücksichtigt werden müssen.

Während in den Versuchsreihen mit Chelidoniumsamen die nach der monomolekularen Reaktion berechnete Konstante nur mäßig und manchmal gar nicht abnimmt, findet sich in den Cystenversuchen stets eine ziemlich beträchtliche Abnahme derselben Konstanten. Desgleichen nehmen hier die Schützschen und Arrheniusschen Konstanten, die zwar teilweise gelten, besonders bei kleinerer Enzymkonzentration in stärkerem Maße ab, als dies jemals bei der Phytolipase der Fall ist. Schließlich wird — dieselbe Tatsache, nur in anderer Weise ausgedrückt — der Exponent in der Gleichung $k = \frac{X}{t^m}$, der für Phytolipasen gewöhnlich größer als 0,5 gefunden wurde, hier sehr klein (0,28 und 0,38).

Über die Gründe der Abnahme der monomolekularen Konstanten ist in der vorhergehenden Abhandlung die Rede gewesen, und es wurde betont, daß eine Schädigung des Enzyms während der Reaktion nicht so sehr in Betracht kommt. Gerade dieses letztere Moment scheint nun für die Versuche mit dem Cystenenzym eine größere Bedeutung zu haben. Wenigstens ließe sich durch die Annahme, daß die Cystenflüssigkeit während der Reaktion geschwächt wird, der bedeutend mehr verzögerte Reaktionsverlauf erklären.

Gestützt wird diese Annahme einmal durch die Tatsache, daß mit ganz kleinen Lipasemengen bei weitem nicht dasselbe Maximum erreicht wurde wie mit größeren Mengen. Nach allen bisherigen Erfahrungen ist aber der Gleichgewichtszustand unabhängig von der Güte wie von der Menge des Ferments. Die kleine Lipasemenge wurde also vorzeitig unwirksam.

Ferner zeigte sich, daß die unveränderte Cystenflüssigkeit beim Stehen allmählich lipolytisch unwirksamer wurde.

Vergleichen wir kurz noch die Cystenlipase mit Pankreaslipase, so ergeben sich einige Unterschiede, welche die Annahme der Spezifität der einzelnen Zoolipasen stark stützen. Pankreaslipase hat im allgemeinen die Fähigkeit, sowohl Neutralfette als auch niedere Ester zu hydrolysieren. Die meisten Versuche sind mit solchen einwertigen Estern angestellt, ja manchmal ist nur eine Ester-spaltende, nicht aber eine Neutralfett-spaltende Wirkung festgestellt worden. Für die Cystenflüssig-

keit gilt nun fast das Gegenteil. Wohl ist eine starke Lipase (im eigentlichen Sinne), aber nur eine sehr schwache Esterase vorhanden. Diese Tatsache ist mit der Annahme Oppenheimers[1]) nicht ganz in Einklang zu bringen, welcher sagt: „Es liegt wohl die Annahme nahe, daß die eigentliche Lipase, wenigstens die tierische, imstande ist, auch einfachere Ester zu spalten, während es andererseits wohl Fermente geben mag, die zwar einfachere Ester, nicht aber die eigentlichen Fette zu verseifen vermögen."

Ein anderer Unterschied zwischen Cysten- und Pankreaslipase scheint in der Aktivierung durch Koenzyme zu liegen, die für die letztere von großer Bedeutung sind. Diese Frage wurde vorläufig noch nicht genauer verfolgt. Nur soviel steht fest: Der durch Eintrocknen der Cystenflüssigkeit gewonnene Rückstand hat ohne weiteres starke lipolytische Wirkungen, die auch durch Zugabe von $CaCl_2$-Lösung nicht verstärkt werden.

Läßt man ferner z. B. die wässerige Lösung von Pankreassaft durch Pergament dialysieren, dann wird die zurückbleibende Flüssigkeit lipolytisch unwirksam, kann aber durch Zugabe von gekochtem Pankreassaft wieder aktiviert werden. Ich stellte diesen Versuch in analoger Weise mit der Cystenflüssigkeit an und kam ebenfalls zu einem anderen Resultat. Nach 24stündiger Dialyse hatte die zurückbleibende nicht dialysierte Flüssigkeit ca. 50% ihrer lipolytischen Wirksamkeit verloren, konnte aber weder durch Zugabe des Dialysats noch durch Zugabe von gekochter Cystenflüssigkeit wieder aktiver gemacht werden. Das Dialysat selbst erwies sich als lipolytisch unwirksam.

Zusammenfassung der Resultate.

Die Pankreas-Cystenflüssigkeiten haben lipolytische Eigenschaften, die denen anderer tierischer Lipasen sehr ähnlich sind.

Die Flüssigkeit läßt sich durch Filtrierpapier filtrieren, ohne ihre lipolytische Wirksamkeit zu verlieren. Letztere nimmt allmählich ab, wenn die Flüssigkeit längere Zeit sich selbst überlassen wird. Der durch Eintrocknen der Flüssigkeit im Vakuum bei 20° gewonnene trockene Rückstand ist lipolytisch wirksam, auch nach längerem Aufbewahren.

[1]) Die Fermente und ihre Wirkungen. Leipzig 1910.

Säuren wirken hemmend auf die Fetthydrolyse, Alkalien in ganz geringer Menge nicht, eher etwas beschleunigend.

Bei geringen Enzymmengen — 0,05 bis 0,2 ccm Cystenflüssigkeit — besteht direkte Proportionalität zwischen Enzym und verseiftem Fett. Für größere Enzymmengen gelten häufig die Schützsche und die Arrheniussche Formel.

Für den zeitlichen Verlauf der Fettspaltung wie auch der Ölsäure-Glycerinestersynthese läßt sich innerhalb bestimmter Grenzen die Schützsche Regel oder die Arrheniussche Gleichung anwenden. Die nach der Adsorptionsisotherme $k = \frac{X}{E^m}$ berechnete Konstante gibt teilweise noch bessere Resultate.

Das Maximum der Fettspaltung für Triolein beträgt (81,5 %) 93,5 % verseifter Ester, das Maximum der Synthese aus Ölsäure und Glycerin (letzteres im Überschuß) (25 %) 42 % gebundene Ölsäure. (Die Hydrolyse und die Synthese erfolgten unter den jeweils günstigsten Bedingungen, sind infolgedessen nicht miteinander zu vergleichen.)

Über die Lipase der Chelidoniumsamen.

Von

Konrad Bournot.

(Aus dem Pharmakologischen Institut der Universität Leipzig.)

(Eingegangen am 20. Mai 1913.)

Lipasen sind in sehr vielen, aber durchaus nicht allen ölhaltigen Pflanzensamen gefunden worden; auch erstreckt sich ihr Vorkommen nicht auf besondere Familien oder Pflanzengruppen. Die lipolytische Wirkung der Pflanzen ist individuell, sie wurde gefunden zum Beispiel in den Samen von Papaveraceen wie Chelidonium majus, Papaver somniferum, Euphorbiaceen wie Croton tiglium, Ricinus communis, nicht aber in den Samen von Papaver Rhoeas oder Croton depuratum, Euphorbia esula (Fokin)[1]. Ferner steht fest, daß die lipolytische Wirksamkeit der ungekeimten Samen von Ricinus communis, Chelidonium majus und Linaria reticulata von allen anderen bisher untersuchten Phytolipasen auch nicht annähernd erreicht wird.

Es sind außer von Fokin, der in 30 bis 60 verschiedenen Pflanzensamen Lipasen feststellen konnte, etwas ausführlicher, wenn auch nicht sehr eingehend, die Phytolipasen von Arachis hypogaea, Linum usitatissimum, Croton tiglium, Prunus amygdalus — Dunlap und Seymour[2]) — Scurti und Parozzani[3]) — Tonegutti[4]) —, von Myristica fragrans, Cola acuminata, Zea Mays, Piper nigrum — Mastbaum[5]) untersucht worden. Aus diesen Untersuchungen — die von Mastbaum

[1]) Chem. Rev. d. Fett- u. Harz-Ind. **18**, 180 bis 240.
[2]) Journ. americ. chem. soc. **27**, 935, 1905 u. **33**, 1787, 1911.
[3]) Gaz. chim. italian. **37**, 476, 1907.
[4]) Chem. Centralbl. **1911**, I, 332.
[5]) Chem. Centralbl. **1907**, I. 978.

ausgenommen — geht hervor, daß die lipolytische Wirkung der ungekeimten Samen äußerst gering, die der gekeimten Samen zwar deutlich vorhanden, aber auch nicht bedeutend ist. Die von Mastbaum gefundenen Phytolipasen, die wohl etwas wirksamer zu sein scheinen, werden im Gegensatz zu allen anderen sowohl durch schwache Säuren, wie schon durch Wasser allein in ihrer Wirksamkeit gehemmt.

Die einzige Phytolipase, über deren Eigenschaften, Dynamik und Statik wir durch mehrere Arbeiten genauer unterrichtet sind, ist die des Ricinussamens. Es sei hierüber auf die neueste Arbeit von Jalander[1]) verwiesen, in der die Darstellung, Eigenschaften, Kinetik der Ricinuslipase in ausführlicher Weise angegeben und untersucht wurden.

Um festzustellen, ob nicht auch in anderen Pflanzensamen als in denen von Ricinus communis zu quantitativen Versuchen geeignete Lipasen vorhanden wären, untersuchte ich zunächst folgende zum Teil schon als lipolytisch wirksam bekannte Samen auf ihre fettspaltenden Eigenschaften hin:

Croton tiglium, Croton sebiferum, Aleurites cordata, Aleurites molukkana, Bertholletia excelsa, Cannabis sativa, Brassica oleifera, Papaver somniferum, Perilla ocymoides, Linum usitatissimum, Arachis hypogaea, Soja hispida.

Die Vorversuche waren in der Weise angestellt worden, daß 0,5 bis 5 g der teils mit Äther oder Petroläther entfetteten, teils nicht entfetteten, gepulverten Samen mit 5,0 g Cottonöl angerieben und mit 5,0 g Wasser oder Essigsäure unter Zusatz von 1$^0/_0$ Chloralhydrat emulgiert wurden. Unter zeitweiligem Schütteln wurde das Gemisch bei 30^0 im Thermostaten stehen gelassen. Es wurden täglich äquivalente Mengen des Gemisches mit alkoholischer $^n/_{10}$-Natronlauge titriert, so daß jede Steigerung der Acidität genau festgestellt werden konnte. Die Resultate der zahlreichen Versuche seien nur summarisch angeführt.

Es war in allen Fällen eine mehr oder weniger geringe Zunahme des Säuregehalts bis zum 5. bis 11. Tage festzustellen. Nach noch längeren Versuchszeiten war keine wesentliche Steigerung der Acidität mehr zu beobachten. Durchschnittlich nahm die Säurezahl um das 2 bis 3fache zu inner-

[1]) Diese Zeitschr. 36, 435 bis 476, 1911.

halb der ersten 5 Tage, was 2 bis 4% verseiften Cottonöls entspricht.

Eine etwas stärkere Zunahme der Acidität war mit den gekeimten Samen zu erreichen (vor allem Leinsamen und Rübsen), wo 8 bis 12% Cottonöl im Höchstfalle verseift wurden. Daß wir es wirklich mit enzymatischen Vorgängen zu tun hatten, bewiesen Kontrollversuche mit gekeimten Samen, die $^1/_4$ Stunde lang auf 100° erhitzt worden waren und sich als vollständig unwirksam erwiesen.

Da nach den angestellten Vorversuchen keines der betreffenden Materialien für die genaue quantitative Verfolgung der Reaktion Aussicht auf Erfolg versprach, entschloß ich mich, zu diesem Zwecke die Samen von Chelidonium majus heranzuziehen, deren stark lipolytische Wirkung schon von Fokin[1]) beobachtet worden war.

Allgemeine methodische Vorbemerkung.

Die Verseifung des Substrates — es wurde meist je 1 g verwendet — erfolgte anfangs in kleinen zylindrischen Glasgefäßen aus Jenaer Glas von 5 ccm Inhalt, die durch eingeschliffene Glasstöpsel dicht verschlossen wurden. Da sich für die längeren Zeitversuche zuschmelzbare Gläschen von gleichem Rauminhalte als vorteilhafter und vollkommen einwandfrei erwiesen, wurden später alle Versuche mit solchen Gläschen ausgeführt.

Die abgespaltene oder gebundene Menge Säure ergab sich durch Titration mit $^n/_{10}$ alkoholischer Natronlauge (75% Alkohol), und zwar wurde hierbei das zu titrierende Gemisch — der Inhalt je eines Gläschens — in einer neutralen Mischung von 20 ccm Alkohol und 5 ccm Äther gelöst. Als maßgebend für die Berechnung galt dann der Punkt, bei dem eben Rot-

---

[1]) Chem. Rev. d. Fett- u. Harz.-Ind. 18, 130 bis 240. Nach Fokin wurden mit 0,3 bis 0,5% Chelidoniumsamen bis 90% Neutralfett gespalten. Die Samen waren ohne jede Vorbehandlung wirksam und vermochten auch Substrate wie das Glycerid der Sebacinsäure und Kuhbutter, die von Ricinuslipase nicht angegriffen werden, zu spalten. Bei Versuchen mit sehr großen Fettmengen fand Fokin, daß für die Hydrolyse mit Pflanzenlipase das Gesetz der monomolekularen Reaktion gilt. Nähere Versuchsdaten und Angaben über die Ausführung der Versuche fehlen vollständig.

färbung eintrat, die nach weiterem Zusatz von 0,2 ccm Lauge wenigstens $^{1}/_{2}$ Minute bestehen blieb — Indicator Phenolphthalein — (Vermeidung der Hydrolyse; vergleiche Kanitz, „Über die Titration von Fetten"[1]).

Als Substrat kamen meist Cottonöl und Triolein, ferner Olivenöl und Mandelöl, später auch einige einwertige Ester und für die Synthese Ölsäure „Kahlbaum" zur Anwendung. Zur Berechnung dienten folgende Zahlen:

1 g reinste Ölsäure Kahlbaum		wird gebund. v.	36,26 ccm	$^{n}/_{10}$-NaOH
1 g „ „	II	„ „	35,73 „	„
1 g käufliche „		„ „	34,05 „	„
1 g Cottonöl		verbraucht zur Verseifung	37,8 ccm	$^{n}/_{10}$-NaOH
1 g Olivenöl		„ „ „	34,4 „	„
1 g Mandelöl		„ „ „	34,1 „	„
1 g Triolein		„ „ „	35,15 „	„

Da wir es mit heterogenen Gemischen zu tun hatten, wurden dieselben stets mit Hilfe einer durch einen Motor betriebenen vertikal rotierenden Scheibe geschüttelt. Auf diese Weise werden die besten und gleichmäßigsten Resultate erzielt (Jalander[2]). Zu allen Versuchen wurde 1 $^{0}/_{0}$ Chloralhydrat hinzugefügt, welches das Enzym nicht beeinflußt und genügt, um Bakterien fernzuhalten (Connstein[3]).

1. Versuche, das Enzym zu isolieren.

Als Ausgangsmaterial dienten die aus einer Samenhandlung bezogenen reifen Samen des Schöllkrauts, Chelidonium majus, einer in Europa häufig vorkommenden Papaveracee. Es wurde zunächst versucht, die in den Samen enthaltene Lipase auf irgendeine Weise zu isolieren.

Das zur Darstellung des Ricinusenzyms geeignete Nicloux-sche Verfahren (Jalander[4]) erwies sich hierbei als wenig brauchbar. Einerseits lassen sich die kleinen Chelidoniumsamen nicht wie die Ricinussamen von der Schale befreien, andererseits scheint das Enzym durch die Behandlung selbst ziemlich geschwächt zu werden.

[1]) Ber. d. Deutsch. chem. Ges. 36, 400.
[2]) Diese Zeitschr. 36, 436.
[3]) Chem. Ber. 35, 3990, 1902.
[4]) Diese Zeitschr. 36, 436.

Es wurden nach dem Nicloux schen Verfahren[1]) vier Fraktionen von verschiedener fettspaltender Wirkung gewonnen, die jedoch der Wirksamkeit der Ricinuslipase nicht annähernd gleichkam.

Da das Enzym außerdem in verschiedenen Lösungsmitteln wie Wasser, Alkohol, Glycerin, Öl fast[2]) unlöslich war, ist es mir bisher noch nicht gelungen, die Isolierung der Lipase zu bewerkstelligen.

Die Versuche wurden darum zum größten Teile mit den mittels Äther oder Petroläther ausgezogenen fein gepulverten Samen angestellt. Bei der Extraktion der gepulverten Samen — 2 bis 3 Stunden lang mit Äther oder Petroläther im Soxhletschen Apparat — erhielt ich stets 38 bis 40% Öl, das zwar langsam, aber nicht unerheblich lipolytisch wirksam war[3]).

0,19 g Chelidoniumöl (durch Extraktion mit Petroläther gewonnen), 1,0 g Cottonöl und 1,0 g Wasser werden andauernd geschüttelt; Temperatur 39°.

Verseiftes Cottonöl nach	1 Stunde	7,7%
„ „ „	16 Stunden	13,1 „
„ „ „	40 „	41,0 „

Andererseits erwies sich der entölte Samen lipolytisch weniger wirksam als der nicht entölte Samen.

1,0 g Cottonöl, 1,0 g Wasser — Temperatur 20° — 5 mal täglich geschüttelt mit

1. 0,1 g mit Äther ausgezogenem Samen
2. 0,1 g „ Petroläther „ „
3. 0,1 g nicht entöltem „

Verseiftes Öl nach 41 Stunden:

1. 54,64%
2. 53,15 „
3. 73,44 „

[1]) 45 g sehr fein gepulverte Samen wurden mit 60 g Cottonöl gut verrieben. Die durch Leinewand gepreßte und so von den groben Anteilen befreite Ölaufschlemmung zentrifugierte ich dann mehrmals, wodurch ich die verschiedenen mehr oder minder lipolytisch wirksamen Cytoplasmabodensätze gewann. Letztere wurden mittels Petroläther von dem anhaftenden Öl befreit.

[2]) Nur das in den Chelidoniumsamen selbst enthaltene fette Öl scheint das Enzym einigermaßen zu lösen.

[3]) Das Chelidoniumöl ist reich an freien Fettsäuren. Es wurde daher in allen Versuchen, die mit nicht entölten Samen anzustellen waren, die in denselben enthaltene freie Fettsäure durch Titration bestimmt und bei der Berechnung in Abzug gebracht.

Trotz der geringeren Wirksamkeit wurden die meisten Versuche mit entölten Samen angestellt, weil sie ein reineres und gleichmäßigeres Material boten.

2. Wirkungen der im Samen enthaltenen Lipase (Esterase) unter verschiedenen Bedingungen.

a) Feststellung der günstigen Versuchsbedingungen für die Fettspaltung.

Einfluß der Wassermenge.

Bei einer Versuchsdauer von mehreren Stunden kommt der Wassermenge kein bedeutender Einfluß zu, wie der folgende Versuch unter Berücksichtigung der nicht unbeträchtlichen Versuchsfehler zeigt. Für 0,1 g entölte Samen und 1,0 g Cottonöl wurden mit 0,1 g Wasser die besten Verseifungen erzielt.

0,1 g entölte Samen, 1,0 g Cottonöl, 0,1 bis 2 g Wasser werden innerhalb 6 Stunden viermal je 2 Minuten lang geschüttelt; Temperatur 37°. Die Samen werden erst mit dem Öl angeschüttelt und dann mit dem Wasser versetzt.

Wassermenge ccm	Verbrauchte n/10-NaOH ccm	Verseiftes Öl %
0,1	5,33	14,09
0,5	4,86	12,85
1,0	6,07	16,07
2,0	5,29	15,33

Wurden die Samen zuerst mit dem Wasser angerieben und dann erst mit dem Substratöl geschüttelt, so fand, wie nachstehender unter denselben Bedingungen ausgeführter Versuch zeigt, eine bedeutend geringere Verseifung statt.

Wassermenge ccm	Verbrauchte n/10-NaOH ccm	Verseiftes Öl %
1,0	1,12	2,97

Die mikroskopische Beobachtung des Vorganges der Verseifung [vgl. Jalander[1])] ließ erkennen, daß auch hier — wie bei der Ricinuslipase — eine umgekehrte Emulsion entsteht, d. h., daß Fett das Dispersionsmittel und die wässerige Phase in der Fettphase verteilt ist.

[1]) Diese Zeitschr. 36, 436.

Einfluß von Säuren und Alkalien.

Sowohl die entölten wie auch die nicht entölten Samen wirken am schnellsten ohne jeglichen Zusatz von Alkali oder Säure.

0,1 g entölter Samen, 1,0 g Cottonöl werden bei 18° 15 Stunden lang andauernd geschüttelt unter Zusatz von je 1,0 ccm Wasser, Säure oder Alkali.

	Verbrauchte n/10-NaOH ccm	Verseiftes Öl %
1,0 ccm Wasser	9,4	24,86
1,0 „ n/10-Natronlauge . .	5,5	14,55
1,0 „ n/100-Essigsäure . .	7,9	20,90
1,0 „ n/10- „ . .	7,2	19,04
1,0 „ n/5- „ . .	6,3	16,66

Noch ungünstiger als Essigsäure beeinflußt n/10-Schwefelsäure die Hydrolyse.

0,1 g entölter Samen, 1,0 g Cottonöl werden bei 19° 3 Stunden lang andauernd geschüttelt mit je 1,0 ccm Wasser, Essigsäure oder Schwefelsäure.

	Verbrauchte n/10-NaOH ccm	Verseiftes Öl %
1,0 ccm Wasser	4,4	11,64
1,0 „ n/100-Essigsäure . .	3,4	9,00
1,0 „ n/10- „ . .	3,0	7,94
1,0 „ n/10-Schwefelsäure .	0,7	1,85

Die folgenden beiden Versuche zeigen, daß auch die durch nicht entölte Samen erfolgende Fetthydrolyse durch Zusatz von Essigsäure ungünstig beeinflußt wird, und daß die Säureempfindlichkeit entölter Samen größer ist als die nicht entölter.

Je 0,1 g entölter Samen, 1,0 g Cottonöl werden bei 18° 5mal täglich geschüttelt mit je 1,0 ccm Wasser oder Säure. Dauer: 41 Stunden.

	Verbrauchte n/10-NaOH ccm	Verseiftes Öl %
1,0 ccm Wasser	20,65	54,64
1,0 „ n/10-Essigsäure . . .	9,25	24,48

Derselbe Versuch mit je 0,1 g nicht entöltem Samen:

	Verbrauchte n/10-NaOH ccm	Verseiftes Öl %
1,0 ccm Wasser	27,76	73,44
1,0 „ n/10-Essigsäure . . .	22,62	59,83

Die Essigsäure verringert nur die Reaktionsgeschwindigkeit; wenn die Zeitdauer genügend lang ist, wird ungefähr dasselbe Maximum der Verseifung mit Essigsäure wie mit Wasser erreicht.

Je 0,1 g nicht entölter Samen, 1,0 g Cottonöl werden versetzt mit

a) 1,0 ccm Wasser,

b) 1,0 „ n/10-Essigsäure,

und 24 Stunden lang bei 19° andauernd geschüttelt; die sich bildende feste Emulsion wird die übrige Zeit ruhig stehen gelassen.

Zeit (nach der titriert wurde) Std.	a) Mit Wasser verseiftes Öl %	b) Mit n/10-Essigsäure verseiftes Öl %
24	45,24	31,48
48	74,09	60,57
72	83,34	78,30
168	92,06	90,97
288	—	90,75

Das Maximum der Cottonöl-Verseifung, das unter den günstigen Bedingungen zu erreichen war, betrug 92 bis 94% bei 0,025 bis 0,2 g entöltem oder nicht entöltem Samen auf 1,0 g Öl und 1,0 g Wasser.

Einfluß von $MnSO_4$, NaCl, $CaCl_2$, Alkohol und Phosphor.

Die enzymatische Wirkung der Samen wird durch 2%ige NaCl- und $MnSO_4$-Lösungen, wie durch 18%igen Alkohol geschwächt. (Tierische Lipasen werden durch Mn-Salze aktiviert.)

Je 1,0 g Cottonöl, 0,1 g entölter Samen, 1,0 ccm Wasser mit den verschiedenen Zusätzen werden zeitweilig geschüttelt bei 20°. — Zeit: 40 Stunden.

	Verbrauchte n/10-NaOH ccm	Verseiftes Öl %
1 ccm Wasser	19,08	50,48
1 „ NaCl-Lösung (1,8%) .	16,43	43,46
1 „ $MnSO_4$-Lösung (2%) .	15,21	40,23
1 „ Alkohol (18%ig) . .	12,75	33,75

Eine $^{n}/_{40}$-$CaCl_2$-Lösung, die nach Kanitz Pankreaslipase günstig beeinflußt, hat keinen Einfluß auf die Wirkung der Samen.

Je 1,0 g Cottonöl, 0,1 g entölte Samen werden 3 Stunden andauernd geschüttelt bei 29° mit

	Verseiftes Öl
1,0 ccm Wasser	20,29 %
1,0 „ $^{n}/_{40}$-$CaCl_2$-Lösung	21,38 „

Phosphor in der Konzentration 1:4000 wirkt hemmend auf die Lipolyse.

Je 0,1 g entölter Samen, 1,0 g Wasser werden dauernd geschüttelt mit je 1,0 g Mandelöl — bzw. Mandelöl + Phosphor (1:2000).

Nach 4 Stunden verseiftes Mandelöl	21,28 %
„ 7 „ „ „	31,44 „
„ 4 „ „ Phosphoröl . . .	18,10 „
„ 7 „ „ „ . . .	23,82 „

Einfluß des Glycerins bei verschiedenen Wassermengen.

Für spätere Versuche der gleichzeitigen Fetthydrolyse und Fettsynthese war es von Wichtigkeit, den Einfluß des Glycerins und somit die vorteilhaftesten Konzentrationsbedingungen für beide Vorgänge festzustellen. Hierzu dienen die folgenden Versuche.

Aus Tabelle I ergibt sich, daß Glycerin stark hemmend auf die Hydrolyse bei Gegenwart geringer Wassermengen wirkt, Glycerin und Wasser zu gleichen Teilen dagegen haben keinen wesentlichen Einfluß auf die Anfangsgeschwindigkeit; wohl aber wird das Gleichgewicht verschoben und ein anderes, als wenn die Verseifung bei Gegenwart von reinem Wasser erfolgt. (Man vgl. auch Tabelle XVII und XIX, die später ausführlich besprochen werden.)

Tabelle I.

Einfluß des Glycerins und Wassers auf die Verseifung von Cottonöl bei 39°. Je 0,5 g Cottonöl, 0,05 g entölter Samen werden 3 Stunden lang dauernd geschüttelt mit den verschiedenen Wasser- und Glycerinmengen.

Wasser ccm	Glycerin g	Verbrauchte $^{n}/_{10}$-NaOH ccm	Verseiftes Öl %
0,00	0,57	2,28	12,04
0,10	0,57	3,73	19,74
0,25	0,57	5,18	27,41
0,50	0,57	6,53	34,54
0,50	0,00	6,65	35,19

b) Feststellung der günstigsten Versuchsbedingungen für die Synthese aus Glycerin und Ölsäure.

Einfluß verschiedener Glycerin- und Wassermengen.

Die Synthese ist bei den Konzentrationsverhältnissen, die den für die Verseifung des Trioleins günstigsten Bedingungen entsprechen — es wurden dann bis 93,8% Triolein in 20 Tagen verseift — eine äußerst schwache.

Die für die Synthese erforderlichen berechneten Mengen Glycerin und Ölsäure werden mit je 1,0 g Wasser und 0,1 g entöltem Samen 24 Stunden lang dauernd, später 3mal täglich geschüttelt bei 39°.

Zeit Tage	Wasser ccm	Reinste Ölsäure g	Glycerin g	Verbrauchte n/10-NaOH ccm	Gebundene Ölsäure %
1	1,0	0,909	0,116	32,55	1,24
30	1,0	0,944	0,111	33,24	2,02

Bessere Resultate werden erzielt mit einem Glycerinüberschuß und kleineren Wassermengen. So lehrt Tabelle II, daß Wasser in größeren Mengen stets hemmend wirkt, daß die besten Synthesen mit einem großen Glycerinüberschuß bei Gegenwart von nicht mehr als 20% Wasser zustande kommen, ferner, daß das Ende der Reaktion (47 bis 50% gebundene Ölsäure) in kurzer Zeit (in 5 Stunden) erreicht wird.

Tabelle II.

Synthese aus Ölsäure und Glycerin bei verschiedenen Konzentrationsverhältnissen. Temperatur 39°. Die Gemische werden mindestens 24 Stunden lang dauernd geschüttelt.

Entölter Samen g	Zeit Std.	Ölsäure, käufl. g	Ölsäure, reinste g	Glycerin g	Wasser g	Verbrauchte n/10-NaOH ccm	Gebundene Ölsäure %	
0,10	5	—	0,494	0,574	0,10	9,30	47,00	Glycerin im Überschuß mit 20% Wasserzusatz.
0,10	8	0,446	—	0,574	0,10	8,67	42,88	
0,10	41	0,603	—	0,574	0,10	11,12	45,83	
0,10	72	—	0,484	0,574	0,10	9,18	47,66	
0,10	72	0,435	—	0,574	0,10	7,65	47,17	
0,10	192	0,586	—	0,645	0,10	9,90	50,71	
0,05	15	0,511	—	0,105	0,10	15,34	9,88	Kleinere Mengen Glycerin m. 100% Wasserzusatz.
0,05	192	0,505	—	0,105	0,10	13,88	17,47	
0,05	192	0,479	—	0,073	0,05	11,71	26,60	
0,05	15	0,514	—	0,250	0,25	14,92	12,84	Glycerin im Überschuß mit 50 bis 100% Wasserzus.
0,05	15	0,511	—	0,570	0,25	12,13	28,78	
0,05	15	0,497	—	0,570	0,50	13,68	17,47	

c) Wirkung des Samens auf einwertige Ester.

Ähnlich den tierischen Lipasen hat der Chelidoniumsamen auch die Eigenschaft, Ester aus einwertigen Alkoholen und hochmolekularen Fettsäuren zu spalten und zu synthetisieren. Während aber nach den Versuchen und Angaben verschiedener Autoren (Dietz[1]), Pottevin[2]), Armstrong[3]) auch die Ester mit geringem Kohlenstoffgehalt (Essigester z. B.) mit Leber- oder Pankreaslipase gut gespalten und gebildet werden, hat das Chelidoniumenzym nur auf Ester von höherem Molekulargewicht einen größeren Einfluß.

Analog der Essigsäure scheinen die nächsthöheren Säuren derselben Reihe bis zur Baldrian- bzw. Isobaldriansäure, wie auch aromatische Säuren schädigend auf unser Enzym einzuwirken; sie ließen sich weder mit einwertigen noch mit mehrwertigen Alkoholen mittels der Lipase verestern. Desgleichen war es in den meisten Fällen nicht möglich, entsprechende Ester wie Buttersäure-Amyl- oder Äthylester, Baldriansäure-Amylester gut zu verseifen. Während Essigester gar nicht angegriffen wurde, waren vom Buttersäure-Amylester immerhin bis 13,57 % verseifbar.

Je 0,1 g entölter Samen, 0,5 g Buttersäure-Amylester, 0,5 g Wasser werden bei 39° dauernd geschüttelt.

	Verbrauchte $^{n}/_{10}$-NaOH	Verseifter Ester
Nach 5 Stunden:	2,55 ccm	8,08 %
„ 24 „ :	4,29 „	13,57 %

Der nachstehende Versuch — verglichen mit dem vorangehenden — zeigt, daß Gegenwart von Amylalkohol, in dem Wasser und Ester gelöst waren, die Hydrolyse hemmt.

Je 0,1 g entölter Samen, 0,507 g Buttersäure-Amylester, 0,05 g Wasser, 1,0 ccm Amylalkohol werden bei 39° dauernd geschüttelt.

	Verbrauchte $^{n}/_{10}$-NaOH	Verseifter Ester
Nach 15 Stunden:	1,73 ccm	5,49 %
„ 39 „ :	2,24 „	7,11 %

Auch Lanolin wurde nicht angegriffen. Dagegen erwiesen sich Öl-, Stearin-, Palmitin-, Myristin- und Laurinsäure als geeignet zur fermentativen Estersynthese und Hydrolyse.

---

1) Zeitschr. f. physiol. Chem. 52, 279.

2) Compt. rend. 136, 767; 137, 378,

3) Proc. Roy. Soc. 76, 606; 78, 376.

Aus Tabelle III geht hervor, daß sich Myristin-, Laurin- und Ölsäure besser zur enzymatischen Synthese mit Isobutylalkohol als Stearin- und Palmitinsäure eignen. Desgleichen gibt Isobutylalkohol bessere Resultate als Äthylalkohol. Die Wirksamkeit des Enzyms ist also von beiden Komponenten, sowohl von der Art von Säure wie von der Art des Alkohols abhängig.

Tabelle III.

Die Gemische wurden bei 39° mit 0,05 g entöltem Samen stehen gelassen, 6 mal täglich geschüttelt.

Zeit Std.	Menge der Säure g	Art der Säure	Menge des Alkohols ccm	Art des Alkohols	Verbrauchte n/10-NaOH ccm	Gebundene Säure %
18	0,350	Stearinsäure	0,70	Isobutylalkohol	6,43	47,46
18	0,359	Palmitinsäure	0,70	do.	4,77	65,97
18	0,512	Ölsäure	0,25	do.	2,59	84,81
18	0,377	Myristinsäure	0,45	do.	2,28	86,19
18	0,344	Laurinsäure	0,34	do.	1,76	89,75
16	0,354	Palmitinsäure	0,70	Äthylalkohol	11,20	18,99
16	0,324	„	0,32	do.	5,80	54,09

3. Kinetik der Enzymreaktionen.

a) Enzym und Substrat unter verschiedenen Konzentrationsbedingungen.

Die folgenden 5 Tabellen geben Aufschluß über den Einfluß verschieden großer Enzymmengen (0,01 bis 0,04 g Samen) auf die Verseifung von je 1,0 g Cottonöl in denselben Zeiten (1 und 2 Stunden), und zwar geben Tabelle IV, V, VI und VII die Versuche mit nicht entölten Samen bei 19°, 29° und 37°, Tabelle VIII einen Versuch mit entöltem Samen bei 39° wieder. Tabelle VIII führt zu demselben allgemeinen Ergebnis wie die ersten 4 Tabellen und braucht daher nicht für sich besprochen zu werden.

In den 1stündigen Versuchen — Tabelle IV, V, VI und VIII besteht annähernd direkte Proportionalität zwischen Enzym und verseifter Menge nur bei ganz kleinen Samenmengen (0,005 bis 0,025 g); je größer die Enzymkonzentration E wird, desto mehr fällt der Wert von $\frac{X}{E}$ bzw. $\frac{X}{Et}$. Umgekehrt nimmt

der Wert von $\frac{X}{\sqrt{E}}$ (Schützsche Regel) ständig zu, nähert sich aber einem konstanten Werte um so mehr, je größer die Enzymkonzentration wird. Die Schützsche Regel ist also für eine ganze Versuchsreihe nicht anwendbar. Dagegen gibt die Exponentialgleichung $K = \frac{X}{E^m}$, in der m zwischen 0,5 und 1,0 liegt, konstante Werte. Die nach der Arrheniusschen Formel[1] $K = \frac{1}{Et}\left(a \ln \frac{a}{a-X} - X\right)$, die ja im wesentlichen der Schützschen Regel entspricht, berechnete Konstante zeigt ebenfalls einen ansteigenden Gang.

Tabelle IV.

Je 1,0 g Cottonöl, 1,0 g Wasser werden 1 Stunde lang andauernd geschüttelt mit nicht entöltem Samen bei 19°[2]).

E Samen g	a: Verbrauchte n/10-NaOH ccm	a: Verseiftes Öl %	b: Verbrauchte n/10-NaOH ccm	b: Verseiftes Öl %	X Mittelwert %	$\frac{X}{E}$	$\frac{X}{\sqrt{Et}}$	K Arrhenius-Formel	$m = 0{,}7$ $\frac{X}{E^m}$
0,025	0,9	2,38	—	—	2,38	95,2	15,1	1,52	36,1
0,050	1,5	3,97	1,7	4,50	4,23	84,6	18,9	1,98	35,2
0,100	2,8	7,41	3,1	8,20	7,81	78,1	23,4	3,17	37,7
0,200	4,5	11,90	4,1	10,85	11,37	56,9	26,6	3,60	41,9
0,300	5,8	15,34	5,4	14,29	14,81	49,4	28,0	4,07	37,1
0,400	7,4	19,57	6,6	17,46	18,51	46,3	29,3	4,90	35,7

Tabelle V.

Je 1,0 g Cottonöl, 1,0 g Wasser werden 1 Stunde lang andauernd geschüttelt mit nicht entöltem Samen bei 29°.

E Samen g	a: Verbrauchte n/10-NaOH ccm	a: Verseiftes Öl %	b: Verbrauchte n/10-NaOH ccm	b: Verseiftes Öl %	X Mittelwert %	$\frac{X}{E}$	$\frac{X}{\sqrt{Et}}$	K Arrhenius-Formel	$m = 0{,}65$ $\frac{X}{E^m}$
0,010	0,9	2,38	1,0	2,64	2,51	251	25,1	2,3	50,1
0,025	2,3	6,08	2,2	5,82	5,95	238	37,6	7,9	65,5
0,050	3,5	9,26	3,7	9,79	9,52	190	42,6	9,4	66,7
0,100	5,3	14,02	—	—	14,02	140	44,3	10,8	62,6
0,200	8,0	21,16	8,7	23,02	22,09	110	49,4	14,3	62,9
0,300	10,0	26,46	10,4	27,51	26,98	90	49,3	14,9	59,0

[1]) Nobel-Inst. I. Nr. 9, 1908.

[2]) Für die Berechnung der Konstanten wurde der Durchschnittswert der beiden Parallelversuche (a und b am Ende der Tabellen) zugrunde gelegt.

Tabelle VI.

Je 1,0 g Cottonöl, 1,0 g Wasser werden 1 Stunde lang andauernd geschüttelt mit nicht entöltem Samen bei 37°.

E Samen g	Verbrauchte $^n/_{10}$-NaOH ccm	X Verseiftes Öl %	$\frac{X}{E}$	$\frac{X}{\sqrt{Et}}$	K Arrhenius-Formel	$m = 0,64$ $\frac{X}{E^m}$
0,025	2,9	7,67	307	48,5	12,8	81,3
0,050	4,9	12,96	259	58,0	18,4	88,2
0,100	7,6	20,11	201	63,4	23,4	87,8
0,200	11,7	30,95	155	69,2	30,5	86,6
0,300	14,8	39,15	130	71,5	35,0	84,4

Tabelle VII.

Je 1,0 g Cottonöl, 1,0 g Wasser werden 2 Stunden lang andauernd geschüttelt mit nicht entöltem Samen bei 19°.

E Samen g	a: Verbrauchte $^n/_{10}$-NaOH ccm	a: Verseiftes Öl %	b: Verbrauchte $^n/_{10}$-NaOH ccm	b: Verseiftes Öl %	X Mittelwert %	$\frac{X}{E}$	$\frac{X}{\sqrt{Et}}$	$m = 0,71$ $\frac{X}{E^m}$
0,010	0,65	1,73	0,7	1,85	1,79	179	12,7	47,1
0,025	1,40	3,70	1,5	3,97	3,83	153	17,1	52,6
0,050	2,32	6,14	2,4	6,35	6,24	127	19,7	52,4
0,100	3,53	9,34	3,9	10,32	9,83	103	22,0	50,4
0,200	5,84	15,45	5,9	15,61	15,53	78	24,6	48,7

Tabelle VIII.

Je 1,0 g Cottonöl, 1,0 g Wasser werden 1 Stunde lang andauernd geschüttelt mit entöltem Samen bei 39°.

E Samen g	a: Verbrauchte $^n/_{10}$-NaOH ccm	a: Verseiftes Öl %	b: Verbrauchte $^n/_{10}$-NaOH ccm	b: Verseiftes Öl %	X Mittelwert %	$\frac{X}{E}$	$\frac{X}{\sqrt{Et}}$	$m = 0,64$ $\frac{X}{E^m}$
0,005	0,3	0,79	—	—	0,79	158	11,2	23,5
0,010	0,6	1,48	0,6	1,48	1,53	153	15,3	29,2
0,025	1,5	4,06	1,4	3,70	3,88	155	24,5	41,1
0,050	2,5	6,61	2,3	6,08	6,34	127	28,4	43,1
0,100	4,7	12,44	4,3	11,38	11,91	119	37,7	52,0
0,200	7,6	20,10	6,8	17,99	19,04	95	42,6	53,4

b) Beobachtung des zeitlichen Verlaufs der Hydrolyse.

Die Tabellen IX bis XIV geben Aufschluß über den zeitlichen Verlauf der enzymatischen Fettspaltung bei 19°, 29° und

39° (Cottonöl als Substrat). Es kamen stets dieselben Öl-, Wasser- und Samenmengen (je 1,0 und 0,1 g) in Anwendung.

Tabelle IX.

Je 1,0 g Cottonöl, 1,0 g Wasser, 0,1 g entölter Samen werden andauern geschüttelt bei 19°.

Zeit in Stunden	Verbrauchte $^n/_{10}$-NaOH ccm	X Verseiftes Öl %	$\frac{X}{\sqrt{Et}}$	Arrhenius-Formel K	Arrhenius-Formel X[1] berechnet	Arrhenius-Formel X beobachtet	$\frac{100}{t} \log \frac{a}{a-X}$
1	1,63	4,82	13,7	0,77	—	—	1,91
3	4,08	10,80	19,7	2,07	11	10,8	1,65
5	5,41	14,31	20,2	2,24	15	14,8	1,34
7	6,33	16,74	20,0	2,25	17	16,7	1,14
9	7,25	19,17	20,2	2,34	19	19,2	1,08
13	8,88	23,48	20,6	2,52	23	23,5	0,89
16	9,80	25,92	20,5	2,55	25	25,9	0,81
19	11,84	31,32	22,7	3,29	—	—	0,86
24	15,71	41,58	26,8	4,65	—	—	0,97
37	24,18	63,98	33,3	10,30	—	—	1,19
66	31,94	84,49	32,9	15,40	—	—	1,22

Tabelle X.

Je 1,0 g Cottonöl, 1,0 g Wasser, 0,1 g entölter Samen wurden andauernd geschüttelt bei 29°.

Zeit in Stunden	Verbrauchte $^n/_{10}$-NaOH ccm	X Verseiftes Öl %	$\frac{X}{\sqrt{Et}}$	Arrhenius-Formel K	$\frac{100}{t} \log \frac{a}{a-X}$
0,5	1,87	4,94	22,1	2,5	4,40
1	3,52	9,32	29,5	4,7	4,25
2	6,90	18,25	40,8	9,5	4,37
3	9,84	26,04	47,6	13,7	4,33
4	12,54	33,18	52,5	17,8	4,38
5	14,92	39,48	55,8	21,5	4,36
6	16,58	43,86	56,6	23,1	4,18
7	17,41	46,05	55,1	22,4	3,83
9	20,63	54,55	57,5	26,9	3,80
12	26,23	69,36	63,3	40,8	4,28
16	27,85	75,39	59,6	40,5	3,81
17	29,74	78,69	60,4	44,6	3,94
22	30,26	80,05	54,0	36,8	3,17
24	31,92	84,45	54,5	42,3	3,37

[1]) Der Wert von X wurde durch Interpolation mittels der Kurve der Gleichung $k \cdot e \cdot t = 100 \ln \frac{100}{100 - X} - X$ gefunden. $k = 2,33$.

Tabelle XI.

Je 1,0 g Cottonöl, 1,0 g Wasser, 0,1 g entölter Samen wurden andauernd geschüttelt bei 39°.

t Zeit Std.	a: Verbrauchte n/10-NaOH ccm	a: Verseiftes Öl %	b: Verbrauchte n/10-NaOH ccm	b: Verseiftes Öl %	*X* Mittelwert %	$\frac{X}{\sqrt{Et}}$	*K* Arrhenius-Formel	$\frac{100}{t}\log\frac{a}{a-X}$
0,083	1,22	3,24	—	—	3,24	35,5	6,3	17,20
0,166	1,43	3,78	1,22	3,24	3,51	27,2	3,5	9,30
0,250	1,74	4,59	—	—	4,59	29,0	5,2	8,20
0,333	2,14	5,67	—	—	5,67	31,1	5,4	7,62
0,500	2,55	6,75	2,24	5,94	6,34	28,4	4,0	5,68
0,750	3,78	9,99	3,37	8,91	9,45	34,5	6,6	6,76
1	4,59	12,15	—	—	12,15	38,4	8,1	5,63
2	8,37	22,13	9,20	24,34	23,23	52,0	15,1	5,74
3	12,55	33,21	13,30	35,19	34,15	64,4	25,5	6,05
4	15,70	41,54	16,30	43,12	42,33	67,0	30,6	5,98
5	20,70	54,76	22,70	60,04	56,40	80,0	53,2	7,21
7	23,16	61,27	24,30	64,29	62,78	75,1	51,5	6,13
15	27,80	73,53	29,00	76,72	75,12	61,3	42,7	4,03
24	31,70	83,87	—	—	83,87	54,1	41,1	3,30
48	31,44	83,15	—	—	—	—	—	—

Tabelle XII.

Je 1,0 g Cottonöl, 1,0 g Wasser, 0,1 g nicht entölter Samen werden andauernd geschüttelt bei 19°.

t Zeit Std.	a: Verbrauchte n/10-NaOH ccm	a: Verseiftes Öl %	b: Verbrauchte n/10-NaOH ccm	b: Verseiftes Öl %	*X* Mittelwert %	$\frac{X}{\sqrt{Et}}$	*K* Arrhenius-Formel	$\frac{100}{t}\log\frac{a}{a-X}$
1	2,5	6,61	2,3	6,08	6,34	20,0	2,0	2,84
2	3,3	8,73	3,0	7,94	8,33	18,6	1,9	1,89
5	5,1	13,50	5,5	14,55	14,02	19,8	2,2	1,31
8	6,5	17,20	6,5	17,20	17,20	19,2	2,1	1,03
12	7,9	20,90	8,2	21,69	21,29	19,4	2,3	0,87
17	11,1	29,36	11,2	29,63	29,49	22,1	3,2	0,87
24	15,5	41,00	—	—	41,00	26,5	5,0	0,95
30	20,1	53,17	—	—	53,17	30,7	7,6	1,09
39	24,5	64,82	—	—	64,82	32,8	10,2	1,16
48	28,0	74,09	—	—	74,09	33,8	13,0	1,22
72	31,5	83,34	—	—	83,34	31,1	11,9	1,08

Die Untersuchung des zeitlichen Verlaufes der Hydrolyse läßt keine weitgehende Gesetzmäßigkeit erkennen. Sowohl die

Schützsche Regel als auch die Arrheniussche Formel und die Reaktion erster Ordnung haben stets nur in gewissen Phasen Geltung. Die jeweilige Übereinstimmung der Konstanten ist also eine rein empirische und sowohl von dem mehr oder weniger weit fortgeschrittenen Reaktionsstadium als auch von der Temperatur abhängig.

Tabelle XIII.

Je 1,0 g Cottonöl, 1,0 g Wasser, 0,1 g nicht entölter Samen wurden andauernd geschüttelt bei 29°.

t Zeit Std.	a: Verbrauchte $n/_{10}$-NaOH ccm	a: Verseiftes Öl %	b: Verbrauchte $n/_{10}$-NaOH ccm	b: Verseiftes Öl %	X Mittelwert %	$\frac{X}{\sqrt{Et}}$	K Arrheniusformel	$\frac{100}{t}\log\frac{a}{a-X}$
1	4,6	12,17	4,6	12,17	12,17	38,5	9,0	5,64
2	8,6	22,75	9,1	24,07	23,41	52,4	15,5	5,98
3	11,6	30,69	11,9	31,48	31,08	56,8	20,7	5,39
5	17,1	45,42	17,2	45,50	45,37	64,2	30,0	5,25
7	19,9	52,65	—	—	52,65	62,9	31,9	4,62
10	23,6	62,43	24,2	64,02	63,22	63,2	36,8	4,34
13	26,9	71,16	—	—	71,16	62,4	40,9	4,15
17	29,5	78,03	29,5	78,03	78,03	58,5	43,2	3,87
24	31,0	82,01	31,5	83,34	82,67	53,4	38,6	3,17
39	34,1	90,23	34,7	91,80	91,01	46,1	38,4	2,68
48	34,7	91,80	—	—	91,80	41,09	33,0	2,26
61	35,4	93,65	35,7	94,45	94,05	37,6	30,8	2,01

Tabelle XIV.

Je 1,0 g Cottonöl, 1,0 g Wasser, 0,1 g nicht entölter Samen wurden andauernd geschüttelt bei 39°.

t Zeit Std.	a: Verbrauchte $n/_{10}$-NaOH ccm	a: Verseiftes Öl %	b: Verbrauchte $n/_{10}$-NaOH ccm	b: Verseiftes Öl %	X Mittelwert %	$\frac{X}{\sqrt{Et}}$	K Arrheniusformel	$\frac{100}{t}\log\frac{a}{a-X}$
1	7,7	20,37	7,6	20,11	20,24	64,0	24	9,82
2	12,5	33,07	12,9	35,19	34,13	76,3	38	9,06
3	15,2	40,21	15,9	42,07	41,14	75,1	39	7,67
5	19,9	52,65	21,6	57,15	54,90	77,6	50	9,92
7	24,7	63,34	—	—	63,34	75,7	53	6,23
15	30,3	80,15	—	—	80,15	65,4	54	4,69
24	32,6	86,24	—	—	86,24	55,7	47	3,59
48	35,2	93,15	—	—	95,15	43,4	43	2,74

Es wurden auch mit dem reinen Ölsäure-Glycerinester, dem Triolein, eine Reihe von Zeitversuchen angestellt. Das Ergebnis derselben war folgendes:

Die Verseifung des Trioleins geht viel langsamer vonstatten als die des Cottonöls. Bei andauerndem Schütteln werden bei 39° in 72 Stunden erst 90% des Maximums erreicht. Das Maximum selbst (ca. 94%) ist von dem des Cottonöls nicht sehr verschieden. Sowohl die Schützsche Regel wie die Gleichung für die monomolekularen Reaktionen ist für den Vorgang nur teilweise anwendbar. Die Schützsche Konstante fällt anfangs und nimmt dann wieder zu. Dasselbe gilt für K der Arrheniusschen Formel, das sich allerdings dem Ende der Reaktion besser anpaßt (man vergleiche die vorhergehenden Versuchsreihen mit Cottonöl).

Tabelle XV.

Je 1,0 g Triolein, 1,0 g Wasser, 0,1 g entölter Samen werden andauernd geschüttelt bei 39°.

t Zeit Std.	Verbrauchte n/10-NaOH ccm	X Verseiftes Triolein %	$\frac{X}{\sqrt{Et}}$	K Arrhenius-Formel	X berechnet aus der Arrheniusschen Formel für $K = 9{,}8$		$\frac{100}{t} \log \frac{a}{a-X}$
					X berechnet	X gefunden	
0,25	1,63	4,93	31,2	5,4			8,80
0,50	2,14	6,47	28,9	4,6			5,82
0,75	2,35	7,08	25,9	3,5			4,25
1	2,65	8,00	23,2	3,4			3,62
2	3,06	9,24	20,7	2,3			2,11
3	3,78	11,39	20,8	2,6			1,75
4	4,90	14,78	23,4	3,1			1,74
5	5,71	17,25	24,4	3,3			1,64
8	8,47	25,56	28,6	5,0			1,60
10	10,71	32,33	32,3	6,7	37,3	32,3	1,70
12	11,84	35,75	32,6	7,1	41,3	35,8	1,60
13	12,55	37,87	33,2	7,5	42,8	37,9	1,59
18	15,00	45,26	37,7	8,3	48,0	45,3	1,45
24	18,47	55,72	36,0	10,7	53,8	55,7	1,47
27	20,00	60,35	36,7	11,8	54,3	60,4	1,48
35	23,16	69,88	37,4	14,3	61,6	69,9	1,48
72	26,84	80,99	30,2	11,8	77,6	81,1	1,00
480	31,09	93,80	—	—	—	—	—

Die sprungweise erfolgende Reaktion wäre vielleicht durch die verschieden rasch erfolgende Bindung von Di- bzw. Monoolein zu erklären. Genauere Untersuchungen sind in dieser Hinsicht noch nicht gemacht worden. Die Konstante der mono-

molekularen Reaktion nimmt anfänglich stark ab, später ist nur eine ganz allmähliche Abnahme zu konstatieren. (Man vgl. Tabelle XV und auch Tabelle XVII und XIX).

In den Tabellen XVII und XIX zeigt sich ferner, daß sich hier die Arrheniussche Formel gut anwenden läßt. Dies ist insofern bemerkenswert, als in diesen letzteren Fällen infolge des großen Glycerinüberschusses eine starke Gegenreaktion vorhanden ist, die in dem Versuch Tabelle XV praktisch wegfällt.

c) Beobachtung des zeitlichen Verlaufs der Trioleinsynthese und Hydrolyse unter gleichen Bedingungen und Feststellung des Gleichgewichts.

Durch Vorversuche war schon gezeigt worden, daß das Chelidoniumenzym auch Synthesen ermöglicht. Die folgenden Versuche (Tabelle XVI und XVIII) geben Aufschluß über den zeitlichen Verlauf der Synthese aus Ölsäure und Glycerin. Gleichzeitig wurde der unter denselben Bedingungen angestellte umgekehrte Vorgang beobachtet, und es gelang auf diese Weise, von beiden Seiten ungefähr dasselbe Gleichgewicht zu erreichen.

Gleiche Mengen Samen (je 0,1 g), Glycerin (0,57 g), Wasser (0,5 g) und Ölsäure (0,5 g) einerseits bzw. Triolein (0,5 g) andererseits wurden bei 39° andauernd geschüttelt. Es wurden bis 47,17 % Ölsäure gebunden und bis 43,44 % Triolein verseift (man vergleiche Tabelle XVI und XVII). In den Versuchsreihen Tabelle XVIII und XIX, die den obigen Versuchen analog sind, wurde die Wassermenge auf 0,25 g vermehrt. Es wurden dann bis 35,51 % Ölsäure gebunden und bis 59,37 % Triolein verseift.

Der zeitliche Verlauf der Synthese läßt ebenso wie der der Hydrolyse keinen regelmäßigen Gang erkennen. Auch hier habe ich die gleichen Berechnungen angestellt und außerdem für alle vier Versuchsreihen die Konstante $K = \frac{X}{t^m}$ berechnet, die die beste Konstanz aufweist.

Im ersten Falle (Tabelle XVI und XVII) wurde $m = 0,69$ (Synthese) bzw. 0,40 (Hydrolyse) und der mittlere Wert von $K = 14,07$ (Synthese) bzw. 15,05 (Hydrolyse). Im zweiten Falle (Tabelle XVIII und XIX) ergab sich für m 0,37 bzw. 0,32 und für den mittleren Wert von K 11,8 bzw. 11,3. Die durchschnitt-

liche Reaktionsgeschwindigkeit ist also bei der Spaltung annähernd dieselbe wie bei der Hydrolyse.

Wie schon bemerkt, wird ungefähr dasselbe Gleichgewicht von beiden Seiten erreicht. Durch Extrapolation findet man, daß dasselbe im ersten Falle (Tabellen XVI und XVII) bei 47,9 %, im zweiten Falle (Tabellen XVIII und XIX) bei 62,8 % — auf verseiftes Triolein bezogen — liegt. Das Gleichgewicht wird also durch Verdünnen des Glycerins mit Wasser zugunsten der Verseifung verschoben, wie ja auch bei Abwesenheit von Glycerin der Vorgang nur einseitig hydrolytisch verläuft. Früher war schon gezeigt worden, daß der erreichbare Endzustand unabhängig von der Menge des Enzyms ist, eine Mindestmenge vorausgesetzt. Ebenso ist die Temperatur ohne Einfluß, wie weiter unten in Abschnitt 4 noch nachgewiesen wird.

In allen Fällen haben wir es mit einem echten Gleichgewicht zu tun, wenn wir annehmen, daß das als Katalysator wirkende Enzym mit am Endgleichgewicht beteiligt ist. Nach Euler ist ja die Lage des Gleichgewichtes mit und ohne Katalysator dieselbe nur dann, wenn der Katalysator gleich stark vom Substrat wie vom Reaktionsprodukt gebunden wird. Der in der Enzymphase vorhandene Katalysator wirkt also als Adsorbens und vermittelt die sonst unendlich langsam verlaufende chemische Reaktion.

Tabelle XVI.

(Synthese.)

Je 0,574 g Glycerin, 1,0 g Wasser, ca. 0,5 g käufliche Ölsäure, 0,1 g entölter Samen werden bei 39° andauernd geschüttelt.

t Zeit Std.	Verwendete Ölsäure g	Verbrauchte $^n/_{10}$-NaOH ccm	X Gebundene Ölsäure %	$\frac{100}{t}\log\frac{a}{a-X}$	$\frac{X}{\sqrt{Et}}$	$m=0,65$ $\frac{X}{t^m}$	K Arrhenius-Formel
0,083	0,439	14,49	1,03	5,4	—	—	—
0,25	0,456	14,29	5,95	10,7	37,6	15,5	7,9
0,5	0,442	13,67	7,14	6,4	31,9	—	5,5
1,0	0,450	13,17	12,14	5,6	38,4	12,1	8,0
1,5	0,437	11,94	20,53	6,7	53,0	12,5	16,3
2,0	0,444	11,02	25,50	6,4	57,0	15,8	19,7
3,0	0,429	9,90	30,74	5,3	56,1	—	20,1
4,0	0,455	9,59	36,71	5,0	58,1	14,4	22,6
8,0	0,446	8,67	42,88	3,0	47,9	14,1	16,4
72,0	0,435	7,65	47,17	—	—	—	—

Tabelle XVII. (Hydrolyse.)

Je 0,574 g Glycerin, 0,1 g Wasser, 0,5 g Triolein, 0,1 g entölter Samen werden bei 39° andauernd geschüttelt.

t Zeit Std.	Verwend. Triolein g	Verbrauchte $^n/_{10}$-NaOH ccm	X Verseifter Ester %	$\frac{100}{t}\log\frac{a}{a-X}$	$\frac{X}{\sqrt{Et}}$	$m=0,40$ $\frac{X}{t^m}$	K Arrhenius-Formel	Nach Arrhenius X ber.	X gef.
1	0,509	2,55	15,12	7,12	47,8	15,1	12,7	15,0	15,1
2	0,510	3,27	19,32	4,66	43,2	14,6	10,8	20,0	19,3
4	0,510	4,39	26,48	3,34	41,9	15,2	10,7	26,6	26,5
5	0,510	4,87	28,81	2,95	40,8	15,1	10,3	29,5	28,8
8	0,520	6,01	34,87	2,33	39,0	15,2	10,0	36,0	34,9
24	0,503	6,84	41,02	0,95	26,5	—	4,9	$K = 10,9$	
144	0,504	7,25	43,44	—	—	—	—		

Tabelle XVIII. (Synthese.)

Je 0,57 g Glycerin, 0,25 g Wasser, ca. 0,5 g reinste Ölsäure, 0,05 g entölter Samen werden bei 39° dauernd geschüttelt.

t Zeit Std.	Verwendete Ölsäure g	Verbrauchte $^n/_{10}$-NaOH ccm	Gebundene Ölsäure g	$\frac{100}{t}\log\frac{a}{a-X}$	$\frac{X}{\sqrt{Et}}$	$m = 0,37$ $\frac{X}{t^m}$	K Arrhenius-Formel
0,5	0,522	18,45	2,55	2,24	—	—	—
1	0,520	16,99	9,85	4,51	44,0	9,9	10,8
2	0,519	16,79	10,80	2,48	34,2	8,3	5,4
4	0,531	15,44	19,80	2,39	44,3	11,9	11,3
6	0,516	13,68	26,86	2,26	49,0	13,8	14,8
7	0,515	13,47	27,85	2,03	47,1	13,6	13,7
12	0,531	12,85	33,26	1,46	42,9	13,3	12,0
19	0,523	12,23	35,51	1,00	36,4	11,9	8,8
24	0,512	12,23	34,13	—	—	—	—
120	0,514	12,13	34,94	—	—	—	—

Tabelle XIX. (Hydrolyse.)

Je 0,57 g Glycerin, 0,25 g Wasser, 0,5 g Triolein, 0,05 g entölter Samen werden bei 39° andauernd geschüttelt.

t Zeit Std.	Verwend. Triolein g	Verbrauchte $^n/_{10}$-NaOH ccm	X Verseifter Ester %	$\frac{100}{a}\log\frac{a}{a-X}$	$\frac{X}{\sqrt{Et}}$	$m=0,42$ $\frac{X}{t^m}$	K Arrhenius-Formel	Nach Arrhenius X ber.	X gef.
1	0,510	1,65	9,81	4,49	43,9	9,8	10,6	10,6	9,8
4	0,502	3,21	19,31	2,33	43,2	10,8	10,8	20,5	19,3
7	0,505	4,66	27,87	2,03	47,1	12,3	13,7	26,3	27,9
12	0,510	5,70	33,72	1,49	43,5	11,9	12,4	33,0	33,7
20	0,512	7,05	41,53	1,16	41,5	11,8	12,1	41,3	41,5
24	0,519	7,46	43,37	1,03	39,6	11,4	11,3	44,6	43,4
120	0,495	9,94	59,37	—	—	—	5,1	$K = 11,8$	

4. Temperaturversuche.

a) Feststellung der Tötungstemperatur.

Der nicht entölte gepulverte Samen (0,1 g) wurde $^1/_4$ Stunde lang ohne jeden Zusatz auf 100° erhitzt. Das Enzym verlor nur wenig — ungefähr $^1/_{10}$ seiner ursprünglichen Wirkungskraft; es wurden 88 % der unter normalen Verhältnissen verseiften Menge Öl gespalten.

Je 0,1 g des $^1/_4$ Stunde lang auf 100° erhitzten Samens, 1,0 g Cottonöl, 1,0 g Wasser werden andauernd bei 19° geschüttelt.

Nach 1 Stunde verbrauchte $^n/_{10}$-NaOH: 1,5 ccm = 8,70 % verseiftes Öl
„ 5 Stunden „ „ : 4,7 „ = 12,43 % „ „

Nach 1 Stunde werden normalerweise verseift: 6,34 %
„ 5 Stunden „ „ „ : 14,02 %.

Der folgende Versuch gibt Aufschluß über die Temperaturen, bei denen das im Öl suspendierte Enzym geschwächt bzw. getötet wird.

a) 0,1 g Samen + 1,0 g Cottonöl: 15 Min. lang auf 100° erhitzt
b) 0,1 „ „ + 1,0 „ „ : 15 „ „ „ 120° „
c) 0,1 „ „ + 1,0 „ „ : 15 „ „ „ 140° „
d) 0,1 „ „ + 1,0 „ „ : 15 „ „ „ 160° „

Dann wurde je 1,0 g Wasser hinzugefügt und 5 bzw. 17 Stunden lang jedes Gemisch geschüttelt.

Hierbei wurden verseift:

in a) 12,70 % nach 5 Stunden
„ b) 3,44 % „ 5 „
„ c) 2,12 % „ 17 „
„ d) 0,79 % „ 17 „

Durchschnittlich werden bei 19° mit 0,1 g nicht erhitztem Samen nach 5 Stunden 14,02 %, nach 17 Stunden 29,49 % Cottonöl verseift.

Also wurden in

a) 90,87 %,
b) 24,53 %,
c) 7,19 %,
d) 2,68 %

der normalerweise verseiften Menge Öl gespalten. Mit anderen Worten: Das Enzym verliert durch $^1/_4$ stündiges Erhitzen im Substrat (Cottonöl):

auf 100°: 9,13 % seiner Wirksamkeit
„ 120°: 75,47 % „ „
„ 140°: 92,81 % „ „
„ 160°: 97,32 % „ „

Ganz anders ist der Temperatureinfluß bei Gegenwart von Wasser. Zur Erzielung gleichmäßiger, miteinander vergleich-

barer Resultate wurden die Versuche in folgender Weise angestellt. Je 0,1 g gepulverter, nicht entölter Samen wurde mit je 1,0 g Cottonöl und 1,0 g Wasser zunächst 1 Stunde bei 39° bzw. 29° in zugeschmolzenen Gläschen geschüttelt, um eine bestimmte, festzustellende Ölmenge zu verseifen. Hierauf wurde das Gemisch 15 Minuten lang in einem auf 100°, 85°, 75° und 65° erhitzten Wasserbade gehalten, schnell wieder abgekühlt und eine bestimmte Zeitlang (5 Stunden bis 4 Tage) bei der ursprünglichen Temperatur (29° und 39°) weiter geschüttelt.

Je 0,1 g Samen, 1,0 g Cottonöl, 1,0 g Wasser werden 1 Stunde lang bei 39° geschüttelt, 15 Minuten lang im Wasserbade auf 100° erhitzt, dann bei 39° weiter geschüttelt.

Nach 15 Stunden verseifte Menge Öl: 19,66 %,
" 4 Tagen " " " : 19,20 %.

Im Durchschnitt werden unter normalen Verhältnissen von derselben Menge Samen in 1 Stunde 20,24 % Cottonöl verseift. Demnach wird das Enzym bei Gegenwart von Wasser durch 1/4 stündiges Erhitzen auf 100° vollständig getötet.

Je 0,1 g Samen, 1,0 g Cottonöl, 1,0 g Wasser werden 1 Stunde lang bei 29° geschüttelt, hierauf 1/4 Stunde im Wasserbade auf 85°, 75° und 65° erhitzt und dann wiederum bei 29° 17 Stunden lang geschüttelt.

Hierbei wurden verseift:

in dem auf 85° erhitzten Gemisch a): 30,04 %,
" " " 75° " " b): 65,07 %,
" " " 65° " " c): 70,64 %.

In der 1. Stunde wurden durchschnittlich 14,02 % verseift, also in den 17 Stunden nach dem Erhitzen:

in a) 30,04 — 14,04 = 16,02 %,
" b) 65,07 — 14,02 = 51,05 %,
" c) 70,64 — 14,02 = 56,62 %.

Unter normalen Verhältnissen werden in 17 Stunden bei 29° durchschnittlich 78,03 % Cottonöl gespalten; also sind

in a) 20,53 %,
" b) 65,42 %,
" c) 72,56 %

der normalerweise erreichbaren Menge verseift worden. Mit anderen Worten: Das in der Wasser-Öl-Emulsion suspendierte Enzym verliert durch 1/4 stündiges Erhitzen

auf 85° ca. 80 %,
" 75° " 35 %,
" 65° " 28 %

seiner ursprünglichen Wirksamkeit.

b) Einfluß der Temperatur auf die Verseifungsgeschwindigkeit.

Das Maximum der Verseifung (ca. 93 %) wird sowohl bei 18° wie bei 37° erreicht, wenn auch in verschiedenen Zeiten (Tabelle XX).

Tabelle XX.

Je 1,0 g Cottonöl, 1,0 g Wasser, 0,2 g nicht entölter Samen werden täglich 3 mal geschüttelt.

Zeit Std.	Bei 18° verbrauchte n/10-NaOH ccm	Bei 18° verseiftes Öl %	Bei 37° verbrauchte n/10-NaOH ccm	Bei 37° verseiftes Öl %
16	15,18	40,16	28,54	75,50
40	28,36	75,02	32,47	85,88
64	33,87	89,60	34,62	91,60
120	35,08	92,83	35,28	93,32

Zur Bestimmung des Temperaturkoeffizienten dienten die in den Tabellen IX, X und XI angeführten Versuche, in denen je 1,0 g Cottonöl unter dauerndem Schütteln mit 0,1 g entöltem Samen und 1,0 g Wasser bei 19°, 29° und 39° verseift wurden. Der Durchschnittswert der nach der Gleichung der monomolekularen Reaktion berechneten Konstante, die zwischen 9 % und 64 % (verseiftes Öl) annähernd dieselbe ist, wurde bei den verschiedenen Temperaturen festgestellt und zur Berechnung des Temperaturkoeffizienten benutzt.

Mittlerer Wert für $K_{19} = 1,19$,
" " " $K_{29} = 4,22$,
" " " $K_{39} = 6,05$.

Es ist dann für das Intervall

$$19^{0} \text{ bis } 29^{0}: \frac{K_t + 10}{K_t} = \frac{K_{29}}{K_{19}} = \frac{4,22}{1,19} = 3,6,$$

$$29^{0} \text{ bis } 39^{0}: \frac{K_t + 10}{K_t} = \frac{K_{39}}{K_{29}} = \frac{6,05}{4,22} = 1,4.$$

Das heißt: Bei einem Temperaturzuwachs von 19° auf 29° wird die Geschwindigkeit um das 3,6 fache, von 29° auf 39° um das 1,4 fache gesteigert.

5. Synthese und Hydrolyse von einwertigen Ölsäureestern.

a) Synthesen, insbesondere die des Ölsäure-Isobutylesters.

Die im Chelidoniumsamen enthaltene Esterase ist schon im Abschnitt 2c im allgemeinen untersucht und besprochen worden. Hier soll im speziellen die synthetisierende und hydrolysierende Wirkung des Enzyms, Ölsäure und Alkohol und die entsprechenden Ester betreffend, studiert werden.

Die folgenden Versuche zeigen, daß Äthyl-, Amyl- und Isobutylalkohol bei Gegenwart des Samens mit Ölsäure die entsprechenden Ester in verhältnismäßig kurzer Zeit bilden, und zwar eignet sich Isobutylalkohol am besten, Äthylalkohol weniger gut für die enzymatische Synthese.

Je 0,1 g entölter Samen wird 18 Stunden lang mit dem Alkohol-Ölsäuregemisch bei 39° stehen gelassen.

Verwendete Ölsäure g	Art des Alkohols	Menge des Alkohols ccm	Verbrauchte n/10-NaOH ccm	Gebundene Säure %
0,439	Äthyl	0,25	6,48	53,24
0,510	„	0,50	9,74	42,67
0,508	Amyl	0,25	3,11	81,62
0,512	Isobutyl	0,25	2,59	84,81

Ein größerer Überschuß von Alkohol, ebenso wie Wasserzusatz wirken hemmend auf die Synthese.

Je 0,1 g entölter Samen, ca. 0,5 g Ölsäure, 0,25 bis 1,0 ccm Isobutylalkohol werden 18 Stunden lang bei 39° stehen gelassen.

Verwendete Ölsäure g	Isobutylalkohol ccm	Wasser ccm	Verbrauchte n/10-NaOH ccm	Gebundene Säure %	
0,512	0,25	—	2,55	84,81	Ohne Wasserzusatz.
0,488	0,50	—	3,94	75,77	
0,492	1,00	—	7,05	57,01	
0,518	0,50	0,10	5,56	67,56	Mit Wasserzusatz.
0,507	0,50	0,25	5,70	66,28	
0,497	0,50	0,50	8,29	49,93	
	Äthylalkohol				
0,503	0,50	0,10	14,51	13,42	

In reinem Amylalkohol ist das Enzym unlöslich; ein Auszug der entölten Samen mit Amylalkohol erwies sich als lipolytisch

unwirksam. Dagegen ist ein kleiner Teil der Lipase in dem Gemisch von Ölsäure-Alkohol löslich, wie der folgende Versuch beweist.

15 g Ölsäure, 4,0 g Isobutylalkohol und 1,5 g entölter Samen wurden in einem kleinen verschlossenen Kölbchen unter öfterem Umschütteln bei 39° stehen gelassen. Durch Entnehmen von abgewogenen Proben des jedesmal gut durchgeschüttelten Gemisches wurde der Anfangstiter festgestellt und der weitere Verlauf der Reaktion verfolgt. Nach 15 Minuten waren 3,1 % Ölsäure, nach 2 Stunden 11,34 % Ölsäure gebunden. Nunmehr (nach 2 Stunden) wurde eine kleine Menge von dem Gemisch durch Filtrierpapier filtriert. Es zeigte sich dann, daß in der abfiltrierten Lösung nach 2 Tagen 13,66 %, nach 14 Tagen 36,43 % Ölsäure, hingegen in dem ursprünglichen Gemisch nach 2 Tagen bereits 78,25 % Ölsäure gebunden waren. In dem Filtrat war also eine Zunahme von 66,91 % innerhalb zweier Tage festzustellen.

Durch den folgenden Versuch (Tabelle XXI) sollte das überhaupt erreichbare Maximum der Esterbildung aus Ölsäure und Isobutylalkohol bei verschiedenen Konzentrationsverhältnissen studiert werden. Es wird ein Endzustand von 90 bis 92 % (gebundene Säure) erreicht, wenn Säure und Alkohol im Verhältnis 1 : 0,5 bis 1 : 10 vorhanden sind. Bei einem großen Alkoholüberschußverhältnis 1 : 20 werden nur bis 37,3 % Ölsäure gebunden.

Tabelle XXI.

Je 0,05 g entölter Samen werden mit dem Ölsäure-Alkoholgemisch bei 39° 3 mal täglich geschüttelt.

Zeit Tage	Verwendeter Isobutylalkohol ccm	Verwendete Ölsäure II g	Verbrauchte $^n/_{10}$-NaOH ccm	Gebundene Säure %
7	0,13	0,509	3,74	78,90
13	0,13	0,509	3,29	81,81
7	0,25	0,513	1,76	90,53
7	0,50	0,511	1,65	90,36
13	0,50	0,509	1,75	90,39
7	1,50	0,524	1,35	91,19
13	1,50	0,512	1,31	92,81
7	4,50	0,518	4,60	75,14
13	4,50	0,521	2,09	88,81
7	9,50	0,525	11,30	27,54
13	9,50	0,504	13.60	37,30

Die Klammern fassen je zwei Versuche mit denselben Alkoholmengen zusammen.

Über die Geschwindigkeit der Estersynthese bei verschiedenen Enzymkonzentrationen geben die Tabellen XXII, XXIII,

XXIV und XXV Aufschluß. Es wurden je 0,25 ccm Isobutylalkohol und 0,5 g Ölsäure mit 0,0125 bis 0,1 g entölten Samen dauernd geschüttelt. Die nach der Schützschen und der Arrheniusschen Formel berechneten Konstanten nehmen anfangs stark zu und stimmen schlecht untereinander überein. Hingegen ist die Gleichung der Reaktion erster Ordnung auf den Vorgang anwendbar. Wir haben es zwar mit einer bimolekularen Reaktion zu tun, doch da die eine Reaktionskomponente, der Alkohol, im Überschuß vorhanden ist, ist das erhaltene Resultat verständlich. Ferner ist ersichtlich, daß die mittleren Reaktionskonstanten der 4 Versuchsreihen, also die Reaktionsgeschwindigkeiten, den Enzymmengen direkt proportional sind.

	Enzymmenge	Zugehörige Reaktionsgeschwindigkeit
Tabelle XXII:	0,0125 g	2,6
" XXIII:	0,025 "	5,6
" XXIV:	0,05 "	12,3
" XXV:	0,1 "	25,2

Tabelle XXII.

Je 0,0125 g entölter Samen, 0,25 ccm Isobutylalkohol, 0,5 g Ölsäure II werden bei 39° dauernd geschüttelt.

Zeit Std.	Verwendete Ölsäure g	Verbrauchte $^n/_{10}$-NaOH ccm	Gebundene Ölsäure %	$\frac{X}{\sqrt{Et}}$	$\frac{100}{t}\log\frac{a}{a-X}$
2	0,505	15,75	12,71	80,4	2,95
4	0,482	14,09	18,18	81,3	2,18
6	0,510	12,64	30,62	111,8	2,65
8	0,520	11,40	38,66	122,3	2,65

Tabelle XXIII.

Je 0,025 g entölter Samen, 0,25 ccm Isobutylalkohol, 0,5 g Ölsäure II werden bei 39° dauernd geschüttelt.

t Zeit Std.	Verwendete Ölsäure g	Verbrauchte $^n/_{10}$-NaOH ccm	x Gebundene Ölsäure %	$\frac{X}{\sqrt{Et}}$	$\frac{100}{t}\log\frac{a}{a-X}$
1	0,494	15,24	8,63	54,6	6,40
2	0,496	14,09	20,50	91,7	4,98
2,75	0,497	12,75	28,24	107,7	5,24
4	0,512	11,09	39,40	124,6	5,44
5	0,512	9,33	49,03	138,7	5,85
6	0,508	8,18	54,91	141,8	5,76
7	0,508	7,67	57,76	138,1	5,34

Tabelle XXIV.

Je 0,05 g entölter Samen, 0,25 ccm Isobutylalkohol, 0,5 g reinste Ölsäure werden bei 39° dauernd geschüttelt.

Zeit Std.	Verwendete Ölsäure g	Verbrauchte $^n/_{10}$-NaOH ccm	Gebundene Ölsäure °/₀	$\frac{X}{\sqrt{Et}}$	$\frac{100}{t}\log\frac{a}{a-X}$
0,5	0,469	14,72	13,47	85,2	12,56
1	0,556	15,13	24,95	111,6	12,46
1,75	0,513	11,19	39,43	133,3	12,44
2	0,516	10,67	42,95	135,8	12,96
3	0,515	7,67	58,93	152,2	12,88
4	0,522	6,23	67,15	150,1	12,91
5	0,517	4,77	74,55	149,1	11,89
6	0,515	3,73	80,02	146,1	11,65
12	0,503	1,94	89,35	115,4	—
24	0,513	1,76	90,53	—	—

Tabelle XXV.

Je 0,1 g entölter Samen, 0,25 ccm Isobutylalkohol, 0,5 g Ölsäure II werden bei 39° dauernd geschüttelt.

t Zeit Std	Verwendete Ölsäure g	Verbrauchte $^n/_{10}$-NaOH ccm	x Gebundene Ölsäure °/₀	$\frac{X}{\sqrt{Et}}$	$\frac{100}{t}\log\frac{a}{a-X}$
0,25	0,512	15,85	13,36	84,5	24,88
0,5	0,524	14,09	24,73	110,6	24,68
1	0,507	10,05	44,51	140,8	25,58
1,5	0,498	7,46	58,07	149,9	25,16
2	0,504	5,49	69,50	155,4	25,78
2,5	0,511	4,35	76,17	152,4	24,92

b) Hydrolyse des Ölsäure-Isobutylesters.

Die Versuche, den Ester, dessen Darstellung später beschrieben wird, mit dem Samen zu spalten, hatten folgende Ergebnisse. Das Maximum, das unter den für die gewöhnliche Fettspaltung günstigsten Verhältnissen — Substrat 1,0 g, Wasser 1,0 g, Samen 0,1 g — erreicht wurde, waren 16,78 °/₀. Dieser Endzustand wird in verhältnismäßig kurzer Zeit — in 5 Stunden bei 39° — fast erreicht (Tabelle XXVI).

Tabelle XXVI.

Je 0,5 g Isobutylester, 0,5 g Wasser, 0,1 g entölter Samen werden dauernd geschüttelt bei 39°.

Zeit Std.	Verwendeter Ester g	Verbrauchte $^n/_{10}$-NaOH ccm	Verseifter Ester %
2,5	0,658	2,26	11,62
4	0,500	1,98	13,40
5	0,622	2,46	13,38
18	0,500	2,19	14,84
72	0,553	2,40	14,35
96	0,483	2,30	16,13
240	0,510	2,53	16,78

Im Gegensatze zur Fetthydrolyse begünstigen größere Wassermengen die Esterverseifung, und zwar wurden im Höchstfalle bis 35,82 % $\left(\text{Verhältnis: } \frac{\text{Substrat}}{\text{Wasser}} = \frac{1}{20}\right)$ gespalten.

Tabelle XXVII.

Das Ester-Wassergemisch wird mit je 0,1 g entöltem Samen bei 40° andauernd geschüttelt.

Zeit Std.	Verwendeter Ester g	Wassermenge g	Verbrauchte $^n/_{10}$-NaOH ccm	Verseifter Ester %
5	0,622	0,5	2,46	13,38
5	0,514	1,0	2,63	17,32
5	0,560	2,0	3,51	21,20
5	0,480	3,0	3,62	25,51
5	0,523	4,0	4,28	27,67
5	0,518	6,0	4,60	30,09
15	0,502	6,0	4,70	31,18
15	0,510	10,0	5,40	35,82

Auch die Gegenwart von Aceton begünstigt die Esterspaltung.

Je 0,05 entölter Samen werden mit dem Gemisch Aceton, Wasser, Ester bei 40° dauernd geschüttelt.

Zeit Std.	Verwendeter Ester g	Aceton ccm	Wasser ccm	Verbrauchte $^n/_{10}$-NaOH ccm	Verseifter Ester %
20	0,500	0,25	0,25	2,53	17,12
48	0,514	0,50	0,10	5,34	35,15
144	0,630	0,50	0,10	6,17	33,15

Die schwere Spaltbarkeit des Ölsäure-Isobutylesters auf enzymatischem Wege wurde bestätigt durch die Tatsache, daß Ricinuslipase fast gar nicht auf ihn einwirkte; mit einer Cystenlipase wurden bis 15,33 %, mit Kaninchenpankreas bis 14,59 % des Esters gespalten.

Es wurde versucht, unter Anwendung gleicher Mischungsverhältnisse von Isobutyl-Alkohol, Aceton und Wasser sowohl durch Synthese wie durch Hydrolyse des Esters zu demselben Gleichgewicht zu gelangen; doch ist es bei der schweren Spaltbarkeit des Esters bis jetzt noch nicht gelungen, diesen Punkt gleichzeitig von beiden Seiten vollständig zu erreichen.

Tabelle XXVIII.

Die Gemische
Ölsäure, Isobutyl-Alkohol, Aceton, Wasser einerseits (a)
Ester, „ „ „ „ anderseits (b)
werden mit 0,05 g Samen bei 39° andauernd geschüttelt.

Zeit in Std.	b: Verwend. Ester g	b: Wassermenge ccm	b: Isobutyl-Alkohol ccm	b: Aceton ccm	b: Verbrauchte $n/_{10}$-NaOH ccm	b: Verseifter Ester %	a: Verwend. Ölsäure g	a: Wassermenge ccm	a: Isobutyl-Alkohol ccm	a: Aceton ccm	a: Verbrauchte $n/_{10}$-NaOH ccm	a: Gebund. Säure %
46	0,536	0,10	0,2	0,5	2,63	16,61	0,509	0,10	0,2	0,5	12,93	31,87
20	0,50	0,25	0,25	0,25	2,53	17,12	0,509	—	0,25	0,25	3,84	78,90
22	0,52	0,05	0,2	0,5	2,85	18,55	0,501	0,05	0,2	0,5	7,89	56,53
44	0,535	0,05	0,2	0,5	3,06	19,35	0,500	0,05	0,2	0,5	7,30	59,74

NB. Je zwei zusammengehörige Versuche (Synthese a und Hydrolyse b) sind immer nebeneinander gestellt.

6. Darstellung einiger Ester mittels der Lipase.

Die Darstellung der Ester erfolgte in der Weise, daß das Säure-Alkohol-Gemisch mit dem entölten Samen bei einer Temperatur von 39° unter häufigem Umschütteln mehrere Tage lang stehen gelassen wurde. Die überschüssige Säure konnte entweder durch Schütteln des Esters mit 1 %iger Na_2CO_3-Lösung oder durch Behandlung mit ganz fein gepulvertem Bariumhydroxyd entfernt werden. Das letztere Verfahren erwies sich als das vorteilhafteste.

Ölsäure-Isobutyl-Ester.

40 g Ölsäure II, 11,0 g Isobutylalkohol und 3 g entölter Samen wurden in einem verschlossenen Kölbchen unter öfterem Umschütteln bei 40° 5 Tage lang stehen gelassen. Durch Titration einer kleinen Menge war festgestellt worden, daß nach dieser Zeit 89,82% Ölsäure gebunden waren. Die abfiltrierte klare Lösung wurde in zwei gleiche Teile geteilt und nach den oben angegebenen zwei Methoden weiter behandelt.

Die eine Hälfte der Flüssigkeit wurde mit Petroläther verdünnt, mit 1%iger Na_2CO_3-Lösung mehrmals ausgeschüttelt, mit Wasser gut ausgewaschen und mit ausgeglühtem Na_2SO_4 getrocknet. Nach dem Abdestillieren des Petroläthers hinterblieben 4,5 g reiner, neutraler Ester (ca. 23% Ausbeute).

Die andere Hälfte des filtrierten Estergemisches war mit der 5fachen Menge absolutem Alkohol versetzt und mit ca. 3 bis 4 g fein gepulvertem Bariumhydroxyd bis zur schwach alkalischen Reaktion geschüttelt worden; dann wurde die nach dem Absitzen filtrierte Lösung im Vakuum auf $^1/_3$ ihres Volumens eingeengt, mit der 6fachen Menge Petroläther verdünnt und nach dem Filtrieren vollständig bei 40 bis 50° eingeengt. Der noch Spuren von Barium enthaltende Ester wurde nochmals in Petroläther gelöst und durch Ausschütteln mit 1%iger Salzsäure und Wasser vollständig gereinigt. Es hinterblieben schließlich 14,5 g reiner, neutraler Ester (67% Ausbeute).

Der Ester ist eine schwach gelbliche Flüssigkeit, die in einer Kochsalz-Eis-Mischung zu einer salbenartigen Masse erstarrt. Selbst im Vakuum, bei ca. 5 mm Druck, gelang es nicht, den Ester unzersetzt zu destillieren: bei 160 bis 185° wurden einige Tropfen eines schwach sauren Destillates erhalten.

I. 1,3955 g Ester verbrauchen zur Verseifung 8,3 ccm $^n/_2$-Kalilauge
II. 1,0545 g „ „ „ „ 6,24 „ „

$C_{22}H_{42}O_2$ Verseifungszahl. Ber.: 165,5
Gef.: 166,5, 165,5.

Nach dem letzteren Verfahren wurden noch dargestellt:

1. der Palmitinsäure-Äthyl-Ester (aus 7 g Palmitinsäure, 3 g Äthylalkohol und 2 g Samen. Ausbeute: 3,1 g reiner Ester).

2. der Myristinsäure-Amyl-Ester (aus 5 g Myristinsäure, 2,5 g Amylalkohol und 1 g Samen. Ausbeute: 3,4 g reiner Ester).

Die Darstellung des Stearinsäure-Methyl-Esters mißlang.

Palmitinsäure-Äthyl-Ester.

Der dargestellte Palmitinsäure-Äthyl-Ester, der in schönen weißen Nadeln aus Alkohol auskrystallisierte, hatte den Schmelzpunkt von 23°. (Schmelzpunkt nach Beilstein 24°.)

0,1262 g Substanz: 0,3502 g CO_2, 0,1499 g H_2O
$C_{18}H_{36}O_2$ Ber.: C = 76,07; H = 12,68
Gef.: C = 75,68; H = 13,28

Myristinsäure-Amyl-Ester.

Der Myristinsäure-Amyl-Ester, über den wie auch über den Ölsäure-Isobutyl-Ester in der Literatur keine Angaben zu finden sind, ist bei 15° eine schwach gelblich gefärbte Flüssigkeit, deren Schmelzpunkt bei ca. 0° gefunden wurde.

0,2179 g Substanz: 0,6055 g CO_2, 0,2554 g H_2O
0,1027 g Substanz: 0,2816 g CO_2, 0,1188 g H_2O
$C_{19}H_{38}O_2$ Ber.: C = 76,52; H = 13,20
Gef.: C = 76,15; H = 12,87

Bestimmung der Verseifungszahl:

I. 1,0025 g Ester werden verseift von 6,8 ccm $^n/_2$-Kalilauge
II. 0,5385 g „ „ „ „ 3,6 „ „

$C_{19}H_{38}O_2$ Verseifungszahl. Ber.: 187,7
Gef.: 189,9, 190,2.

Vergleich des Chelidonium- und Ricinusenzyms und Zusammenfassung der Resultate.

Chelidoniumlipase ist wie Ricinuslipase unlöslich in Wasser und Glycerin, löst sich dagegen in nicht unerheblichen Mengen bei der Extraktion von Chelidoniumsamen mit Äther oder Petroläther in dem in dem Samen enthaltenen fetten Öl und ist außerdem auch in dem Gemisch von Ölsäure und Alkohol etwas löslich.

Während das Ricinusenzym erst durch Zusatz einer gewissen Säuremenge aktiviert wird, wirkt Chelidoniumenzym am besten mit Wasser ohne irgendeinen andern Zusatz. Schon $^n/_{50}$-Essigsäure wirkt hemmend auf die Lipolyse. Es gilt dies sowohl für vorher entfettete als auch für nicht entfettete Samen. Die im fetten Öl der Chelidoniumsamen sehr reichlich enthaltenen freien höheren Fettsäuren können also nicht wohl diese Verschiedenheit des Verhaltens der Ricinus- und Chelidoniumsamen bedingen.

Mit Ricinuslipase sind nach Jalander[1]) bis 92% Triolein gespalten worden; auch mit der Chelidoniumlipase konnte kein höheres Maximum als 92 bis 95% verseiftes Fett oder Triolein erreicht werden.

[1]) l. c.

Ester einwertiger Alkohole werden von Ricinuslipase nur sehr wenig angegriffen, doch wächst mit steigendem Molekulargewicht der Säure bei gleichbleibendem Alkohol die Spaltbarkeit. Auch Chelidoniumlipase spaltet außer Neutralfetten nur die Ester der höheren Fettsäuren, z. B. Ölsäure-Isobutyl-Ester, Palmitinsäure-Amyl-Ester, je nach den Versuchsbedingungen im Betrage von 16 bis 33%.

Der $^1/_4$ Stunde lang ohne jeden Zusatz auf 100° erhitzte Chelidoniumsamen wird in seiner enzymatischen Wirksamkeit nur wenig (um 10%) geschwächt. Das in Öl suspendierte Enzym der entölten Samen wird bei 160°, das in der Wasser-Öl-Emulsion suspendierte bei 100° durch $^1/_4$ stündiges Erhitzen getötet. Die Temperatur hat innerhalb des Intervalls von 18° bis 39° keinen Einfluß auf das erreichbare Maximum der Fettverseifung (95%). Der nach der Gleichung $c = \frac{k_t + 10}{k_t}$ berechnete Temperaturkoeffizient der Lipolyse durch Chelidoniumsamen ist für das Temperaturintervall 19° bis 29°: $c = 3{,}6$, für 29° bis 39°: $c = 1{,}4$.

Bezüglich der Kinetik der Lipolyse ergab sich für das Chelidoniumenzym in der Hauptsache das gleiche, was bisher in dieser Richtung von der Ricinuslipase bekannt geworden ist. Es kann in diesem Punkte auf das früher schon Gesagte verwiesen werden.

Besonders charakteristisch ist für die Chelidoniumsamen die Gegenwart einer starken Esterase. Sie ist von der Ricinusesterase nicht nur quantitativ, sondern auch qualitativ verschieden, weicht aber insofern nicht von der allgemeinen Regel ab, als sie niedere Ester fast gar nicht, höhere mehr, aber auch nicht sehr weitgehend spaltet. Es ist auch hier anzunehmen, daß sowohl niedere Säuren wie auch niedere Alkohole das Enzym ungünstig beeinflussen. Nach Kastle[1]) ist die Natur des einwertigen Alkohols ohne großen Einfluß auf die Enzymwirkung; in Abschnitt 5a ist die Schädlichkeit des Äthylalkohols verglichen mit Isobutylalkohol nachgewiesen worden. Sehr auffallend ist die rasche und fast vollständig verlaufende Synthese höherer einwertiger Ester (Ölsäure-, Palmitinsäure-Ester usw.),

[1]) Americ. chem. Journ. 31, 521, 1904.

der eine weniger vollständige Hydrolyse gegenübersteht[1]). Wahrscheinlich ist der schädigende Einfluß einer größeren Wassermenge sehr groß, solange Wasser und Substrat keine Emulsion zu bilden imstande sind. So ließe sich die Tatsache erklären, daß Fette und Glycerinester fast vollständig, Ester einwertiger Alkohole und derselben Säure dagegen nur bis 30 % gespalten wurden.

Die Ölsäureisobutylester-Synthese (Isobutylalkokol im Überschuß) verläuft im Sinne der monomolekularen Reaktion. Es besteht außerdem direkte Proportionalität zwischen Enzymkonzentration und Geschwindigkeit. Das Maximum der Estersynthese ist ca. 92 % gebundene Säure.

Bei der Synthese aus Ölsäure und Glycerin (letzteres im Überschuß) werden 47 bis 50 % Ölsäure gebunden.

Bei der Trioleinverseifung wie bei der Trioleinsynthese wird unter gleichen Bedingungen annähernd dasselbe Gleichgewicht von beiden Seiten erreicht. Das erreichbare Gleichgewicht wird durch Wasserzusatz zugunsten der Hydrolyse verschoben.

Vorstehende Untersuchungen wurden auf Veranlassung und unter Leitung von Professor R. Boehm im Leipziger Pharmakologischen Institut ausgeführt.

---

[1]) Mit Ricinuslipase sind derartige Versuche noch nicht angestellt worden; es ist mir selbst aber nicht gelungen, ähnliche Wirkungen mit diesem Ferment zu erzielen.

Die Oxydationsprodukte des Cholesterins in den tierischen Organen.

(Pfortader — Lebervene.)

V. Mitteilung[1]).

Von

J. Lifschütz, Hamburg.

(Eingegangen am 22. Mai 1913.)

Der beachtenswerte Umstand, daß der cholesterinreiche unverseifbare Anteil des aus der Leber isolierten Fettes die Essigschwefelsäurereaktion des im Blute neben Cholesterin reichlich enthaltenen „Oxycholesterins“ nicht gibt, ließ vermuten, daß die Leberzellen dieses neutrale Cholesterinoxydat aus dem Blute zum mindesten teilweise zurückhalten und in irgendeiner Weise zu Produkten verarbeiten, die auf Essigschwefelsäure nicht mehr reagieren. Der naheliegende Einwand, das Blut könnte die Leber glatt passieren, ohne etwas von seinem Oxycholesteringehalt an die Leber abzugeben, konnte, so unwahrscheinlich er auch ist, nicht ohne weiteres übergangen werden. Sollte jedoch dieser Einwand stichhaltig sein, so müßte das Blutfett der Lebervene gegenüber dem Fett des Pfortaderblutes hinsichtlich seines Oxycholesteringehaltes unverändert geblieben sein.

Der vorläufige erste Versuch nach dieser Richtung hin ist mit diesen zwei Blutarten ausgeführt, die getrennt voneinander einem unter Chloroform getöteten Hund entnommen, frisch mit Alkohol vermengt und bei gelinder Wärme getrocknet worden sind. Die Extraktion des Fettes aus dem staubfein gemahlenen Trockenblut geschah nach dem von mir wiederholt empfohlenen Verfahren durch erschöpfendes, anhaltendes Auskochen mit Benzinalkohol[2]).

---

[1]) Die vorangehenden Mitteilungen: Zeitschr. f. physiol. Chem. **50**, 437, 1907; **53**, 140, 1907; 58, 175, 1908; **63**, 233, 1909.

[2]) 1 Teil absol. Alkohol und 9 Teile Benzin vom spez. Gewicht 0,72; vgl. diese Zeitschr. **48**, 384, 1913; Zeitschr. f. physiol. Chem. **63**, 223, 1909.

Die Verseifung der so erhaltenen Blutfette geschah durch 1 bis $1^1/_2$ stündiges Kochen derselben mit $^n/_2$-alkoholischem Kali.

Die Isolierung der unverseifbaren Anteile wurde durch erschöpfendes wiederholtes Ausschütteln des Saponifikats mit reinem Äthyläther, sorgfältiges Waschen und Reinigen der Extrakte von Seifen und N-Verbindungen, Verjagen des Lösungsmittels und Trocknen bis zum konstanten Gewicht bewerkstelligt.

Oxycholesterin und Cholesterin

sind in dem so gewonnenen Unverseifbaren spektralanalytisch ermittelt worden[1]).

Die beiden in Rede stehenden Blutarten ergaben folgende Werte an Fett, Unverseifbarem, Oxycholesterin, Cholesterin und anderen, noch nicht näher bekannten, neutralen Begleitstoffen des Cholesterins, die ich der Kürze wegen mit „Polyoxydaten" bezeichnen möchte[2]).

---

[1]) Die spektrometrische Bestimmung des Oxycholesterins ist an dieser Stelle (48, 373 bis 409) vor kurzem eingehend erörtert worden. Auch die spektralanalytische Cholesterinbestimmung ist daselbst und an den da zitierten Stellen berührt worden und soll in einer demnächst erscheinenden Arbeit: „Über die Bestimmung der Cholesterinstoffe nebeneinander" ausführlicher besprochen werden.

Die üblichen gewichtsanalytischen Verfahren, so z. B. die Fällung des Cholesterins mit Digitonin, waren hier nicht ohne weiteres anwendbar, da namentlich letzteres Verfahren auch mit Oxycholesterin eine in Weingeist schwer lösliche Verbindung gibt, die mit dem Digitonincholesterid zum großen Teil ausfällt, wo sie auch mit der Essigschwefelsäurereaktion leicht nachgewiesen werden kann. (Ähnlich verhält sich auch Isocholesterin.)

Bei dieser Gelegenheit sei noch bemerkt, daß dieses Digitoninoxycholesterid die einzige von mir bisher beobachtete, in Alkohol schwer lösliche Oxycholesterinverbindung darstellt. Sie fällt beim Vermengen der weingeistigen (90 bis 95 %igen Alkohol) Lösungen von Oxycholesterin und Digitonin in weißen silberglänzenden Kryställchen aus, die sich gegen 218° ohne zu schmelzen zersetzen. Diese Beobachtung berechtigt mich zur Hoffnung, die eigentliche, individuelle Zusammensetzung des Oxycholesterins durch dessen Digitoninkomplex zu ermitteln.

[2]) Ich wähle diese Bezeichnung, weil diese noch unbekannten Neutralstoffe aus weiteren Oxydationsprodukten des Cholesterins und vielleicht auch der Oleinsäure zu bestehen scheinen.

	Pfortader. Teile	Lebervene. Teile
100 Teile Trockenblut lieferten Fett	0,95	0,62
100 „ der Fettarten lieferten Unverseifbares . .	36,00	30,00
100 „ des Unverseifbaren lieferten Cholesterin . .	64,60[1])	84,50[2])
100 „ „ „ „ Oxycholesterin	15,10	6,60
100 „ „ „ „ Polyoxydate .	20,30	8,90[3])

Betrachtet man diese Daten vom Trockenblut, Fett bzw. unverseifbaren Anteil des letzteren aus, indem man sie der Reihe nach gleich 100 setzt, so ergibt sich folgende Zusammenstellung:

	Trockenblut Teile	Fett Teile	Unverseifbares des Fettes Teile	Cholesterin Teile	Oxycholesterin Teile	Polyoxydate Teile
Pfortader	= 100	0,95	0,34	0,22	0,051	0,069
		= 100	36,00	23,30	5,400	7,300
			= 100	64,60	15,100	20,300
Lebervene	= 100	0,62	0,19	0,16	0,013	0,017
		= 100	30,00	25,35	1,980	2,670
			= 100	84,50	6,600	8,900

Vergleicht man namentlich die mittleren (horizontalen) Zahlenreihen der beiden Blutarten, in denen der Fettgehalt = 100 gesetzt wird, so ergibt sich, daß das Blutfett der Lebervene gegenüber dem der Pfortader ärmer geworden ist

an Unverseifbarem:

um 6 Teile = 16,6 % vom Blutfett der Pfortader,

an Oxycholesterin:

um 3,40 Teile = 63,0 % vom Oxycholesteringehalt der Pfortader,

an Polyoxydaten:

um 4,63 Teile = 63,4 % von den Polyoxydaten der Pfortader.

Aus den beiden ersten (horizontalen) Zahlenreihen, wo Trockenblut gleich 100 gesetzt wird, ergibt sich, daß das Lebervenenblut rd. $^1/_3$ (vom Pfortaderblutfett) an Fett verloren hat. Dagegen hat das Lebervenenfett, wenn man das Fett gleich 100 setzt, an Cholesterin 2 % zugenommen, oder, will man diese relativ ge-

[1]) Mittel aus vier Bestimmungen.

[2]) Mittel aus drei Bestimmungen.

[3]) Aus der Differenz, die die Summe der beiden vorhergehenden Zahlen (Cholesterin und Oxycholesterin) zu 100 ergänzt, berechnet.

ringe Zunahme auf etwaige Versuchsfehlerquellen zurückführen, zum mindesten nichts verloren. Von allen diesen Lipoidstoffen macht also das Cholesterin allein in dieser Beziehung eine Ausnahme. Nicht minder bemerkenswert erscheint die Tatsache, daß der Verlust, den das Lebervenenfett gegenüber dem der Pfortader an Oxycholesterin erlitten hat, gleich ist seinem Verlust an Polyoxydaten: denn die beiden Verluste betragen rd. 63 %.

Die Leber

desselben Hundes, dem die in Rede stehenden beiden Blutarten entnommen waren, ergab:

in 100	Teilen	Trockenleber . .	18,8	Teile	Fett
„ 100	„	des Fettes . . .	10,4	„	Unverseifbares
„ 100	„	„ Unverseifbaren	52,2	„	Cholesterin[1])
		und	0,3—0,4	„	Oxycholesterin.

Das Leberfett zeigte eine Säurezahl von 43,3, entsprechend einem Gehalt von 21,7 % freier Fettsäure (auf Ölsäure berechnet). Es ist nach Konsistenz und sonstiger physikalischer Beschaffenheit ein fast regelrechtes Fett, im Gegensatz zum Fett der Rinderleber, das mehr wachsartige Beschaffenheit zeigt. Es muß allerdings berücksichtigt werden, daß es sich hier um das Gesamtfett der Hundeleber handelt, während das von mir an anderer Stelle[2]) beschriebene Fett der Rinderleber nur von einem Teil derselben (dem an der Pfortader) herrührt.

Der Cholesteringehalt des Leberfettes wurde in demselben auch vor seiner Verseifung (als freies Cholesterin) bestimmt und ergab keine nennenswerte Differenz im Verhältnis zum Gesamtcholesteringehalt des Fettes nach seiner Verseifung. **Dieses Leberfett enthielt also anscheinend keine Cholesterinester.**

[1]) Bei dem sehr geringen Oxycholesteringehalt der Leber konnte das Cholesterin zur Kontrolle der obigen, spektrometrisch gewonnenen Zahl zweimal auch gewichtsanalytisch mittels Fällung desselben aus alkoholischer Lösung mit Digitoninlösung bestimmt werden und ergab dabei 50,80 und 50,90 % (vgl. auch diese Zeitschr. **20**, 485 bis 487, 1909, und **25**, 426, 1910). Die kleine Differenz zwischen dem obigen spektrometrischen und diesen gewichtsanalytischen Werten ist darauf zurückzuführen, daß das Digitonincholesterid wasserfreies Cholesterin ergibt, während ich meine Testlösungen für die Spektrometrie aus reinem Cholesterin, das 1 Mol. H_2O enthält, herzustellen pflege.

[2]) Zeitschr. f. physiol. Chem. **62**, 222, 226 ff.

Aus der oben wiedergegebenen sehr erheblichen Differenz zwischen dem Oxycholesteringehalt der Blutarten der Pfortader und der Lebervene geht hervor, daß der größte Teil (63 %) des Oxycholesterins des Blutfettes der Pfortader von der Leber zurückgehalten und zu Produkten verarbeitet sein mußte, die die Essigschwefelsäure-Reaktion nicht mehr geben. Welche Art von Produkten diese weitere Verarbeitung des Oxycholesterins liefert bzw. zu welchen Stoffen sie weiter verarbeitet werden, sei den laufenden Untersuchungen vorbehalten. Soviel scheint aber festzustehen, daß diese Produkte, falls sie noch die neutrale Natur ihrer Muttersubstanz beibehalten haben, höchstwahrscheinlich in der Leber zurückgeblieben sein mußten, da das Unverseifbare des Lebervenenfettes fast durchweg (bis zu 91 %) aus nachweisbaren Cholesterinstoffen und nur zum geringeren Teil aus anderen noch unbekannten Neutralsubstanzen besteht. Dafür spricht auch der hohe Gehalt des Leberfettes an diesen letzteren Neutralsubstanzen (ca. 50 % vom Unverseifbaren dieses Fettes).

Wenn es zulässig ist, aus der Analogie des Rinderblutfettes auf das Blutfett des Hundes hinsichtlich der Cholesterinstoffe dieser Fettarten einen Schluß zu ziehen, so scheint es das freie Oxycholesterin des Blutfettes zu sein, welches hier von den Leberzellen zurückgehalten und verarbeitet worden ist, während die Oxycholesterinester mit dem Blutfettrest die Leber durch die Lebervene ungehindert verlassen. Denn, wie ich an dieser Stelle kürzlich nachgewiesen habe (diese Zeitschr. 48, Nr. 384 und 385, Versuche E. und F. und Seite 396, Versuch 1), ist der größte Teil des Oxycholesterins des Rinderblutfettes in freiem Zustande und nur ein kleinerer Teil (etwa $^1/_3$) als Fettsäureester darin enthalten. Ungefähr der gleiche Teil ist auch hier, wie oben dargetan, tatsächlich im Gesamtunverseifbaren des Lebervenenblutfettes ermittelt worden. Leider ließ sich hier, wo mir eine nur kleine Menge dieses Blutfettes zur Verfügung stand, das freie Oxycholesterin (vor der Verseifung des Fettes) nicht direkt bestimmen. Diese Lücke soll bei den nächsten Versuchen ausgefüllt werden.

Oxycholesterin bei der künstlichen Leberdurchblutung.

An der oben zitierten Stelle dieser Zeitschrift (48, 387 und 388) ist kurz hervorgehoben worden, daß auch bei der künstlichen Durchblutung der Leber das Oxycholesterin von dieser zurückgehalten und verarbeitet wird, denn weder das nach der Durchblutung isolierte Unverseifbare des Leberfettes noch das des betreffenden Blutfettes geben die Essigschwefelsäure-Reaktionen des Oxycholesterins.

Es liegen bisher nach dieser Richtung hin zwei Versuche mit Hundeleber vor. In einem dieser Versuche, von dem mir nur die unverseifbaren Anteile des Durchblutungsblutfettes resp. des Fettes der durchbluteten Leber vorlagen, gaben die beiden unverseifbaren Substanzen keine Spur von den Oxycholesterin-Reaktionen mit Essigschwefelsäure bzw. mit darauffolgender Eisenchloridlösung. Vom zweiten Durchblutungsversuch lag mir das eingetrocknete Durchblutungsblut vor, dessen Untersuchung ich daher quantitativ durchführen konnte. Danach ergaben:

100	Teile	Trockenblut	1,21	Teile	Blutfett,
100	„	des Blutfettes	13,00	„	Unverseifbares,
100	„	des Unverseifbaren	50,20	„	Cholesterin
		und	2,20	„	Oxycholesterin.

Vergleicht man diese Werte mit denen des Lebervenenblutfettes, so fallen hier folgende erhebliche Differenzen auf: Der Fettgehalt des Durchblutungsblutes beträgt fast genau das Doppelte von dem der Lebervene. Aber selbst das eingetrocknete Schlachtblut vom Hunde ergab wiederholt einen Fettgehalt von nur 0,60 bis 0,75%. Dagegen ist die Menge des unverseifbaren Teils des Durchblutungsblutfettes gegenüber dem der Lebervene oder auch des Schlachtblutes mehr als um die Hälfte gesunken: denn auch im Blutfett des Schlachtblutes beträgt das Unverseifbare beim Hunde gegen 30% vom Fett.

Da der Oxycholesteringehalt im letzten Unverseifbaren regelmäßig 13 bis 15% beträgt, so ist auch beim zweiten Durchblutungsversuch gegen 80% des Oxycholesterins des Blutes in der Leber geblieben. Das Fett der letzteren ergab jedoch seinerseits wiederholt keine Spur von Oxycholesterin: mithin mußte es auch von der postmortalen Leber irgendwie verarbeitet worden sein.

Soweit indessen aus diesem einen, wenigstens teilweise quantitativ durchgeführten Versuch ein Urteil statthaft ist, dürfte wohl aus den daran geknüpften Betrachtungen folgen, wie gering die Analogie zu sein scheint, zwischen den Vorgängen innerhalb der Leberzellen bei der künstlichen Durchblutung der postmortalen Drüse und den entsprechenden Vorgängen in dem Organ des lebenden Tieres. Aber schon aus rein chemischen Gründen ist diesen Versuchen zweifellos eine hohe Bedeutung zuzuschreiben, da sie bei exakter und einwandfreier Durchführung wohl geeignet erscheinen, in das geheimnisvolle Dunkel der chemischen Arbeit der Leberzellen einiges Licht dringen zu lassen.

Aus diesem Gesichtspunkte sind die Bestrebungen einiger Autoren anerkennend zu begrüßen, die es sich zur Aufgabe machten, den Chemismus des Lipoidstoffwechsels innerhalb der Leber zu erforschen. Das reizvolle Problem z. B. der Entstehung und Bildung des Cholesterins, dessen Bereitungsstätte in der Leber vermutet wird, könnte sicherlich, wenn diese Vermutung richtig ist, auf dem Wege der künstlichen Durchblutung seiner Lösung um ein Bedeutendes näher gebracht werden. So hat Reicher, der diesen Weg beschritten hat, in seiner interessanten Arbeit[1]) über diesen Gegenstand zu zeigen sich bestrebt, daß der Cholesteringehalt im Blute des lebenden Hundes nach dessen Fütterung mit cholesterinfreiem Triolein in beträchtlicher Menge zunimmt. Dieselbe Neubildung an Cholesterin hat Reicher auch bei der künstlichen Durchblutung der Leber unter Zusatz von Triolein wahrgenommen. An sich hat ja diese Beobachtung auch viel Wahrscheinliches. Denn es ist doch zum mindesten auffallend, daß die Cholesterine im Tier- wie im Pflanzenreich stets als Begleitstoffe der Fette und Öle aufzutreten pflegen. Nicht minder auffallend ist die Tatsache, daß fast regelmäßig mit dem Auftreten größerer Mengen des Cholesterins in den Fettgebilden der tierischen Organe und Gewebe auch ein größerer Mangel an Ölsäure verbunden ist. Diese und ähnliche Tatsachen führten mich vor einer Reihe von Jahren zur Annahme, daß die Ölsäure die Muttersubstanz des Cholesterins sein müßte, sowie zu einer Reihe von Versuchen, bei denen ich Gelegenheit hatte, das Auftreten von Cholesterinstoffen in cholesterinfreier Ölsäure nach der Oxydation derselben mit $KMnO_4$[2]) zu beobachten. Soweit würde ja die genannte Reichersche Arbeit diese Anschauung bestätigen. Jedoch erscheint mir diese Bestätigung nicht ganz einwandfrei. Denn der Verfasser gibt in seiner Arbeit nicht

[1]) K. Reicher, „Zur Kenntnis des Lipoidstoffwechsels". Verhdlg. d. Kongr. f. inn. Med., Wiesbaden 1911.

[2]) Vgl. „Studien über den Ursprung und die Bildung des Cholesterins". Zeitschr. f. physiol. Chem. 55, 1 ff., 1908.

an, ob resp. wie er das Cholesterin als solches bei seinen diesbezüglichen Versuchen bestimmt hatte. Aus den betreffenden Angaben scheint aber hervorzugehen, daß Reicher unter der Bezeichnung „Cholesterin" das Gesamtunverseifbare seiner Versuchsfette des Hundeblutes versteht. Auf diese Begriffsverwechslung von „Unverseifbares" und „Cholesterin" stößt man übrigens nicht selten auch in der gesamten Literatur, und zwar auch unter der Motivierung, daß die Menge der „Nichtcholesterine" so gering sei, daß sie vernachlässigt werden könne. Und doch hatte schon vor vielen Jahren E. Schulze[1]) aus dem Unverseifbaren des Wollfettes, das ja gleichfalls auch viel später seltsamerweise als ein Gemenge von fast „reinem Cholesterin und Isocholesterin" galt[2]), nur relativ geringe Mengen von Cholesterin isolieren können. In neuerer Zeit haben P. G. Unna[3]) in den Hautfetten spektrometrisch, Aschoff[4]), L. Wacker[5]) und andere Autoren in den Fetten der inneren Organe und Gewebe auch gewichtsanalytisch das Cholesterin als solches bestimmt und fanden im unverseifbaren Teil aller dieser Fette nur 40 bis 60% Cholesterin. Der sehr bedeutende Rest dieses „Unverseifbaren" muß also aus Stoffen bestehen, die mit dem eigentlichen Cholesterin nicht identisch sind. Es ist demnach klar, daß das an sich nicht unwahrscheinliche Theorem über die Cholesterinsynthese in der Leber nur durch einwandfreie Ermittlungen des wirklichen Cholesterins in den jeweiligen Versuchspräparaten befriedigend bewiesen werden kann. Die eigenartige und noch wenig erforschte Beschaffenheit des Leberfettes sowie auch des Blutfettes fordern zu Arbeiten nach dieser Richtung hin geradezu heraus. Hinreichend sind auch die diesbezüglichen neueren analytischen Mittel, um die mühevolle Arbeit vor Erfolglosigkeit zu bewahren.

Seit geraumer Zeit ist, wie gesagt, auch mein Augenmerk auf dieses Problem gerichtet, und ich hoffe in absehbarer Zeit darauf zurückkommen zu können.

Das Präparatenmaterial zu den obigen Untersuchungen stammt aus dem Laboratorium der Krankenanstalt Sudenburg zu Magdeburg (Oberarzt: Dr. E. Schreiber) und ist von mir im chemischen Laboratorium von P. Beiersdorf & Co. in Hamburg bearbeitet worden.

---

[1]) Ber. d. Deutsch. chem. Ges. 1872.

[2]) Vgl. O. Liebreich, Artikel Lanolin. Realenzyklopädie der gesamten Heilkunde von A. Eulenburg. Berlin 1887, 11, 459, 2. Aufl.; 13, 198, 3. Aufl.

[3]) Diese Zeitschr. 20, 480 bis 499, 1909.

[4]) Unnas Festschrift 1910, Leop. Voß, Hamburg-Leipzig und a. a. O.

[5]) Zeitschr. f. physiol. Chem. 80, 483ff., 1912 und a. a. O.

Über den Nachweis von Formaldehyd in Pflanzen.

Von

Heinrich Fincke.

(Mitteilung aus der Nahrungsmitteluntersuchungsanstalt der Stadt Köln.)

(Eingegangen am 28. Mai 1913.)

Die Umwandlung der Kohlensäure der Luft in Kohlenhydrate durch grüne Pflanzen hat das Interesse der Physiologen stets erregt, doch blieb der Verlauf des Vorganges trotz zahlreicher Untersuchungen bisher dunkel. Anklang fand in erster Linie die Baeyersche Assimilationshypothese, nach der Formaldehyd Zwischenprodukt der von der Kohlensäure zur Stärke führenden Synthese sein soll. Durch die Tatsachen, daß die Pflanzen auch bei Zufuhr von Formaldehyd an Stelle von Kohlensäure Stärke bilden können, daß ferner Kohlensäure außerhalb der Pflanze zu Formaldehyd reduzierbar ist und Formaldehyd außerhalb der Pflanze zu Zucker kondensiert werden kann, wird die Baeyersche Hypothese zweifellos gestützt. Es schien nur noch des anscheinend leicht zu erbringenden Nachweises zu bedürfen, daß Formaldehyd Bestandteil der grünen Pflanzen — womöglich nur während der Assimilationstätigkeit — sei, um der Hypothese einen hohen Grad von Wahrscheinlichkeit zu geben oder sie gar zu beweisen. Zahlreiche Forscher haben sich daher um den Nachweis des Formaldehyds in Pflanzen bemüht. Diese Versuche — teilweise sollen sie bejahend ausgefallen sein — wurden jedoch mit Mitteln ausgeführt, die ein eindeutiges Ergebnis nicht haben konnten; entweder waren die benutzten Reaktionen nicht scharf genug, um Formaldehyd bei der allein in Betracht kommenden geringen Konzentration nachzuweisen, oder die Reaktionen waren nicht solche, die nur mit Formaldehyd eintreten, so daß

Täuschungen vor allem durch andere in den Pflanzen enthaltene Aldehyde eintraten.

Die bisherigen Angaben über erbrachten Nachweis der Formaldehydanwesenheit in grünen Pflanzen sind wiederholt der Kritik unterworfen worden. In den letzten Jahren haben sich Bokorny[1]) sowie Curtius und Franzen[2]) eingehend mit ihnen beschäftigt, mit dem Ergebnis, daß bis dahin Formaldehyd nicht mit Sicherheit in Pflanzen nachgewiesen sei. Curtius und Franzen schreiben: „Die sämtlichen bisher vermeintlich geführten Beweise für das Vorkommen von Formaldehyd in den Pflanzen sind also als unzulänglich zu betrachten. Formaldehyd wurde bisher noch nicht in Pflanzen nachgewiesen." Dieser Ansicht, die sich mit derjenigen von Bokorny deckt, stimme ich durchaus bei.

Curtius und Franzen[3]) fanden zunächst, daß in allen von ihnen untersuchten Blätterarten α, β-Hexylenaldehyd

$$CH_3-CH_2-CH_2-CH=CH-C\begin{matrix}\nearrow O\\ \searrow H\end{matrix}$$

in nicht unbeträchtlicher Menge enthalten ist und bezeichneten es als auffallend, daß dieser Aldehyd die Kohlenstoffkette der Glucose besitzt, so daß beide in genetischem Zusammenhang stehen könnten. Curtius und Franzen erwähnen die Möglichkeit, daß die Pflanzen zur Zuckersynthese den Umweg über diesen Aldehyd einschlagen. Dieser durch die beiden nachstehenden Gleichungen nur grob angedeutete Umweg — zunächst Reduktion der Kohlensäure weit über das nötige Maß hinaus und dann Oxydation

$$6\,CO_2 + 5\,H_2O = CH_3-CH_2-CH_2-CH=CH-C\begin{matrix}\nearrow O\\ \searrow H\end{matrix} + 8\,O_2$$

$$CH_3-CH_2-CH_2-CH=CH-C\begin{matrix}\nearrow O\\ \searrow H\end{matrix} + 2\,O_2 + H_2O$$

$$= CH_2(OH)-CH(OH)-CH(OH)-CH(OH)-CH(OH)-C\begin{matrix}\nearrow O\\ \searrow H\end{matrix}$$

an schwer angreifbaren Stellen des Moleküls bei Nichtveränderung der empfindlichen Aldehydgruppe — ist zu unwahrscheinlich, als daß er die Versuche zum Beweise der Baeyerschen Hypothese überflüssig machen könnte. Tatsächlich hat die genannte Erwägung die Verfasser vom Versuche, Formaldehyd nachzuweisen, nicht abgebracht.

---

[1]) Chem.-Zeitg. 33, 1141 und 1150, 1909.

[2]) Sitzungsber. d. Heidelberger Akad. Math.-Naturw. Klasse 1912, 7. Abhandl. Ber. d. Deutsch. chem. Ges. 45, 1715, 1912.

[3]) Sitzungsber. d. Heidelberger Akad. Math.-Naturw. Klasse 1910, 20. Abhandl.

Curtius und Franzen gingen auf einem anderen Wege an die oft bearbeitete Aufgabe. Ihre Schlußfolgerung sei vorweg genommen: „Die Gegenwart von Formaldehyd ist also durch diese Arbeit sichergestellt und damit der Grundstein der Baeyerschen Assimilationshypothese, die Grundlage alles Geschehens in den Pflanzen, wirklich aufgefunden." Die Feststellung der „Grundlage alles Geschehens in den Pflanzen" ist eine Frage von zu großer wissenschaftlicher Bedeutung, als daß sie unwidersprochen bleiben könnte, solange sich Einwände gegen die Art der Feststellung erheben lassen. Das Schicksal, der Kritik Angriffspunkte zu bieten, teilt die Arbeit von Curtius und Franzen mit allen früheren Versuchen zum Formaldehydnachweis. Die genannten Forscher verfuhren in folgender Weise:

15 kg feingemahlene Hainbuchenblätter wurden mit 15 l Wasser gemischt, der Wasserdampfdestillation unterworfen und 21 l Destillat aufgefangen. 2 Destillate, also 42 l, wurden mit Barytwasser schwach alkalisch gemacht und wiederum der Destillation unterworfen, wobei 15 l abdestilliert wurden. Während die flüchtige Säure als Barytsalz zurückblieb, gingen die übrigen flüchtigen Stoffe über. Das Destillat wurde dann in der Kälte zwecks Umwandlung der Aldehyde in die entsprechenden Säuren mit frisch gefälltem Silberoxyd, zuletzt unter Zusatz von Barytlösung behandelt und von Silber und Silberoxyd abfiltriert. Im Filtrat sind dann die ursprünglichen Aldehyde als Barytsalze vorhanden, daneben Alkohole und Ketone, die durch Destillation entfernt werden. Die wässerige Lösung der Barytsalze wurde zunächst im Vakuum bei niedriger Temperatur, dann auf dem Wasserbad eingedampft und schließlich im Vakuumexsiccator getrocknet. Aus 1500 kg Hainbuchenblättern, die so verarbeitet wurden, wurden 227 g Barytsalze erhalten, die, wie einwandfrei nachgewiesen wurde, zum geringen Teile aus ameisensaurem Salz bestanden. Für jedes Kilogramm Blätter wurden daraus 0,0008613 g Formaldehyd berechnet.

Curtius und Franzen folgern hieraus: „Da diese Ameisensäure nach dem ... geschilderten Verfahren nur aus Formaldehyd entstanden sein kann, so schließt ihr Nachweis auch den Nachweis des Formaldehyds in der Hainbuche in sich." Die Verfasser haben aber nicht nur den Beweis versäumt, daß auf diese Weise Formaldehyd, der in Pflanzen vorhanden ist, wirklich und in der Hauptmenge gefunden wird, sie haben auch keinerlei Beweis geführt, daß beim Nichtvorhandensein von Formaldehyd

im Reaktionsprodukt keine Ameisensäure enthalten ist. Die Berechtigung des ersten Einwandes ist im nachfolgenden experimentell bewiesen. Die Berechtigung des zweiten Einwandes ergibt sich aus der Überlegung, daß es keineswegs ausgeschlossen ist, daß sich während der Aufbewahrung des Destillates oder bei der Behandlung mit Silberoxyd und Baryumhydroxyd Ameisensäure aus anderen Stoffen als aus Formaldehyd gebildet hat. In dem Destillate, das in der genannten Weise behandelt wurde, waren eine Reihe verschiedenartiger Stoffe vorhanden, deren Natur und chemisches Verhalten nur teilweise festgestellt werden konnten. Bei der leichten Entstehung von Ameisensäure aus den mannigfaltigsten Stoffen, z. B. aus dem in Pflanzen verbreiteten Cyanwasserstoff, ist die Möglichkeit nicht von der Hand zu weisen, daß im vorliegenden Falle die Ameisensäure nicht aus Formaldehyd entstanden ist. Der Beweis, daß Hainbuchenblätter Formaldehyd enthalten, kann somit nicht als erbracht angesehen werden.

Aber angenommen, Hainbuchenblätter enthielten in 1 kg etwa 0,0008 g Formaldehyd, dann ist die von Curtius und Franzen gezogene Schlußfolgerung, daß „der Grundstein der Baeyerschen Hypothese, die Grundlage alles Geschehens in den Pflanzen" aufgefunden sei, doch noch zu weitgehend. Denn es fehlt jeder Beweis, daß der angebliche Formaldehydgehalt in einer Beziehung zur Assimilation steht, daß der Formaldehyd nicht ein Abbau- oder Nebenprodukt oder ein zu anderen Synthesen dienender Stoff ist. Der wirkliche Nachweis von Formaldehyd in einer einzelnen Pflanze beweist die Baeyersche Hypothese noch nicht, ebensowenig wie das Nichtauffinden von Formaldehyd ein Beweis für die Unrichtigkeit der Hypothese ist.

Vor kurzem wollen auch Angelico und Catalano[1]) in zahlreichen belichtet gewesenen grünen Pflanzen Formaldehyd gefunden haben, während es nach 24stündigem Stehen der Pflanzen im Dunkeln sowie in einigen Parasiten nicht aufzufinden war. Der Nachweis im ausgepreßten Saft wie im Destillat wurde mit Hilfe folgender Farbenreaktion geführt:

---

[1]) Gazz. chim. ital. 43, I, 38, 1913. Ref. Chem. Centralbl. 84, I, 1352. 1913.

Geringe Mengen des aktiven Prinzips von Atractylis gummifera werden mit einigen Tropfen konzentrierter Schwefelsäure übergossen; dabei färbt sich das weiße Glucosid gelb. Fügt man nun einen Tropfen einer verdünnten wässerigen Formaldehydlösung hinzu, so tritt an der Berührungsstelle Violettfärbung ein. Diese Reaktion soll nur dem Formaldehyd zukommen und so empfindlich sein, daß sich noch 3 Tropfen Formalin auf 1 l Wasser nachweisen lassen.

Eine Nachprüfung dieser Reaktion konnte ich nicht vornehmen, da mir das „aktive Prinzip von Atractylis gummifera" nicht zur Verfügung stand. Die Richtigkeit der Befunde erregt aber — im Hinblick auf die in der vorliegenden Arbeit angegebenen Versuche — starke Zweifel, da Formaldehyd auch in den Destillaten gefunden wurde und da die angegebene Empfindlichkeit (etwa 1 : 30000) geringer ist als diejenige der von mir benutzten Reaktion, mit der Formaldehyd in Blättern nicht nachweisbar war. Außerdem ist die Zahl der Stoffe, die mit konzentrierter Schwefelsäure Färbungen geben, eine so große, daß gegen das angewandte Reagens auch ohne Nachprüfung Bedenken erhoben werden können.

Im folgenden soll über einige neue Versuche über den Nachweis von Formaldehyd in Pflanzen berichtet werden.

Von der Mehrzahl der Formaldehydreaktionen ist nachgewiesen, daß sie für den vorliegenden Zweck ungeeignet sind. Über Versuche zum Nachweis von Formaldehyd in Pflanzen mittels fuchsinschwefliger Säure in salzsaurer Lösung nach Grosse-Bohle[1]) ist noch nicht berichtet worden. Diese Reaktion — nicht zu verwechseln mit dem allgemeinen Aldehydnachweis mittels fuchsinschwefliger Säure in annähernd neutraler Lösung — beruht auf der Bildung eines violetten Farbstoffs aus Fuchsinschwefliger Säure und Formaldehyd und scheint nach den bisherigen Erfahrungen nur durch Formaldehyd hervorgerufen zu werden; auch wurde bisher kein Stoff gefunden, der in den in Naturkörpern vorkommenden Mengen die Reaktion verdeckt oder erheblich stört, sofern die Lösung nicht dunkel gefärbt ist. Die Reaktion hat also den Vorzug, daß sie auch bei Gegenwart von Zuckerarten, Proteinstoffen, Aldehyden usw. ausführbar ist. Grosse-Bohle gab sie in erster Linie für

[1]) Zeitschr. f. Nahrungs- u. Genußmittel 14, 89, 1907; vgl. diese Zeitschr. 51, 260, 1913.

Milch an, in der sie ohne weiteres ausführbar ist, verwies aber auch auf die allgemeine Anwendbarkeit; der Umstand, daß die Reaktion an versteckter Stelle angegeben wurde, bewirkte, daß sie in die Literatur nicht überging; nachträglich wurde sie von Denigès[1]) in ähnlicher Form — unter Verwendung von Schwefelsäure statt Salzsäure — veröffentlicht.

Die Reaktion mit Fuchsinschwefligsalzsäure führt man derart aus, daß man 10 ccm der Flüssigkeit mit 1 oder 2 ccm Salzsäure (spez. Gew. 1,124) mischt und dann 1 ccm fuchsinschweflige Säure hinzufügt. Bei größeren Formaldehydmengen tritt innerhalb kurzer Zeit, bei kleineren Mengen erst in einigen Stunden allmählich eine haltbare blau- bis rotviolette Färbung ein, die spätestens in 20 Stunden ihre größte Stärke erreicht. Die Reaktion tritt bei Anwendung von 1 ccm Salzsäure auf 10 ccm Flüssigkeit etwas leichter ein als bei Zugabe einer größeren Menge Salzsäure, doch können im ersten Falle sehr große Mengen anderer Aldehyde eine vorübergehende Färbung der Flüssigkeit hervorrufen. In außergewöhnlichen Fällen nehme man daher 2 ccm Salzsäure.

Die fuchsinschweflige Säure bereitet man nach Grosse-Bohle[2]) am besten in folgender Weise: 1 g essigsaures oder salzsaures Rosanilin wird in etwa 500 ccm Wasser gelöst und dieser Lösung eine wässerige Lösung von 25 g Natriumsulfit sowie 15 ccm Salzsäure (spez. Gew. 1,124) zugesetzt. Alsdann füllt man zu 1 l auf. Die sich langsam entfärbende Flüssigkeit ist nach einigen Stunden gebrauchsfertig und bei Aufbewahrung in verschlossenen Gefäßen lange haltbar.

Mittels dieses Reagenzes ist Formaldehyd in farblosen wässerigen Flüssigkeiten in einer Verdünnung 1 : 500 000 noch eben nachweisbar. Die gelbliche oder bräunliche Färbung aus Blättern ausgepreßter Säfte verdeckt die violette Färbung natürlich teilweise, doch wurde auch in ihnen die Reaktion stets in einer Verdünnung 1 : 100 000, zuweilen auch 1 : 200 000 sichtbar.

Die Reaktion eignet sich auch zur annähernden colorimetrischen Bestimmung. Die Formaldehydkonzentration darf hierbei nicht hoch sein, weil sonst die Verschiedenheiten der Färbung nicht deutlich sind. Es ist ferner zu beachten, daß

[1]) Compt. rend. 150, 529, 1910; Ref. Chem. Centralbl. 81, I, 1552, 1910.

[2]) Persönliche Mitteilung.

die Vergleichsflüssigkeiten ähnliche Zusammensetzung haben, und daß die Mengen der zu vergleichenden Flüssigkeiten und die Zusätze von Salzsäure und fuchsinschwefliger Säure genau gleich groß genommen werden. Ferner sind die zu vergleichenden Proben zu gleicher Zeit anzusetzen.

Versuchsreihe 1.

Es wurden Versuche angestellt mit dem filtrierten ausgepreßten Safte frisch gepflückter, belichtet gewesener grüner Blätter. Zwischen dem Zeitpunkt des Pflückens und des Versetzens mit dem Reagens lagen 10 bis 30 Minuten. Die ausgepreßten, meist schleimigen Säfte filtrieren vielfach schlecht; man kann das Filtrieren zumeist erleichtern, wenn man den Salzsäurezusatz bereits beim unfiltrierten Safte macht und dann erst filtriert. Die Stärke der Reaktion ist angegeben nach mehrstündigem Stehen der Versuche.

Roßkastanienblätter wurden auf einer Fleischmühle zerkleinert, in einem Tuche ausgepreßt und der Saft filtriert. Das hellbraune Filtrat gab mit Fuchsinschwefligsalzsäure keine Reaktion.

Ein Zusatz von 0,1 mg Formaldehyd zu 10 ccm des Saftes (1 : 100000) gab deutliche Reaktion.

Das gleiche Ergebnis hatten Versuche mit Grasblättern und Huflattichblättern.

Auch der Saft von Löwenzahnblättern gab keine Formaldehydreaktion. Ein Zusatz von 0,05 mg Formaldehyd zu 10 ccm Saft (1 : 200000) gab hier eine schwache, ein solcher von 0,1 mg (1 : 100000) eine deutliche Reaktion.

Ebenso verliefen Versuche mit dem Safte von Rhabarberblättern und Rhabarberblattstielen ohne und mit Formaldehydzusatz.

Diese Versuche zeigen, daß in belichteten grünen Blättern verschiedener Pflanzen eine Formaldehydkonzentration 1 : 200000, beziehungsweise 1 : 100000 nicht vorhanden ist.

Versuchsreihe 2.

Es wurden frisch gepflückte, belichtet gewesene Blätter verschiedener Pflanzen unter verschiedenen Bedingungen mit Wasserdampf destilliert. Durch Vorversuche mit ganz ver-

dünnten Formaldehydlösungen war festgestellt, daß das erste Wasserdampfdestillat von Formaldehydlösungen stärkere Reaktion gibt, als die der Destillation unterworfene Lösung, wenn deren Volumen 250 ccm übersteigt; die Formaldehydkonzentration im ersten Destillat wird um so höher, je größer das Volumen der destillierten Lösung ist. Durch Prüfung des ersten Destillates mit Fuchsinschwefligsalzsäure war 1 mg Formaldehyd in 1 l einer Lösung 1 : 1 000 000 noch eben nachweisbar.

Es wurden jedesmal 30 bis 50 ccm Destillat erzeugt. Die Stärke der Reaktion ist angegeben nach 20 stündigem Stehen. Der zwischen dem Pflücken der Blätter und der Destillation liegende Zeitraum überstieg in keinem Falle eine Stunde.

200 g grob zerkleinerte Roßkastanienblätter ohne Wasserzusatz wurden im Ölbade (110 bis 120°) mit Wasserdampf destilliert. Das erste Destillat gab keine Formaldehydreaktion. 0,02 mg Formaldehyd in 10 ccm Destillat (1 : 500 000) gaben schwache, 0,05 mg (1 : 200 000) deutliche Reaktion.

Das gleiche Ergebnis gaben 150 g grob zerkleinerte Hainbuchenblätter sowie eine Mischung von 200 g Roßkastanienblätterbrei mit gleicher Menge Wasser.

360 g Roßkastanienblüten wurden mit 160 g Wasser übergossen und aus dem Ölbade mit Wasserdampf destilliert. Das erste Destillat gab keine Formaldehydreaktion. Formaldehydzusatz zum Destillat 1 : 500 000 gab schwache, ein Zusatz 1 : 250 000 deutliche Reaktion. Zu den Roßkastanienblüten wurde dann 1 mg Formaldehyd gegeben (1 : 500 000) und dann die Destillation wiederholt. Nach den Destillationsversuchen mit wässeriger Formaldehydlösung wäre in diesem Falle eine Reaktion zu erwarten gewesen. Doch gab das Destillat keine Reaktion.

200 g Rhabarberblätterbrei (durch Zerkleinern in der Fleischmühle hergestellt) wurden mit 100 ccm Wasser aus dem Ölbade der Wasserdampfdestillation unterworfen. Das Destillat gab keine Formaldehydreaktion. 0,02 mg Formaldehyd in 10 ccm Destillat waren schwach, 0,05 mg gut zu erkennen. Die Stärke dieser Färbungen war hier und auch bei den anderen Destillaten nicht merklich verschieden von derjenigen, die die gleichen Formaldehydmengen in reinem Wasser gelöst geben. Zum Destillationsrückstand fügte ich 3 mg Formaldehyd

(1 : 100000) und destillierte wiederum. Auch hier trat wider Erwarten keine Reaktion ein.

Eine Mischung von 150 g Roßkastanienblätterbrei mit 250 ccm Wasser und 15 mg Formaldehyd (1 : 26000) wurde 20 Stunden bei gewöhnlicher Temperatur stehen gelassen und dann der Wasserdampfdestillation unterworfen. Das Destillat gab keine Formaldehydreaktion, auch dann nicht, als die Destillation unter Phosphorsäurezusatz wiederholt wurde.

Auch bei der Wasserdampfdestillation einer Mischung von 1 kg Roßkastanienblätterbrei mit 1 kg Wasser und 50 ccm Phosphorsäure enthielt das erste Destillat Formaldehyd nicht. Dem angesäuerten und erhitzt gewesenen Brei zugesetzte 12 mg Formaldehyd (1 : 166000) waren im Destillat nicht nachzuweisen.

In den Destillaten von Blättern verschiedener Pflanzen wurde Formaldehyd nicht gefunden, doch ging auch Formaldehyd, das den Blättern in Mengen zugesetzt war, die unter anderen Bedingungen deutlich nachweisbar waren, nicht in die Destillate über. Den Destillaten zugesetzter Formaldehyd war ebensogut wie in reinem Wasser zu erkennen.

Versuchsreihe 3.

Frischer und erhitzt gewesener Blätterbrei wurde mit nachweisbaren Formaldehydmengen versetzt und teils bei gewöhnlicher Temperatur teils in der Hitze stehen gelassen. Die Prüfung auf Formaldehyd erfolgte im ausgepreßten Saft.

Um in Blätterpreßsäften schwache Färbungen durch Fuchsinschwefligsalzsäure gut erkennen zu können, ist es zweckmäßig, blinde Versuche in der Weise anzusetzen, daß man 10 ccm der Säfte mit 1 ccm Salzsäure versetzt, unter Umständen auch noch mit 1 ccm einer der fuchsinschwefligen Säure entsprechenden Natriumsulfitlösung. Durch diesen Zusatz findet oft eine erhebliche Aufhellung der Säfte statt.

Zunächst versetzte ich einzelne Portionen frischen Rhabarberblätterbreis mit verschiedenen geringen Formaldehydmengen und ließ damit 2 Stunden stehen, gab Salzsäure hinzu und preßte und filtrierte ab. Eine gleiche Reihe von Versuchen wurde dann sofort nach dem Formaldehydzusatz mit

Salzsäure versetzt und gepreßt und filtriert. Die Formaldehydreaktionen fielen dann folgendermaßen aus:

Formaldehydzusatz zum Rhabarberblätterbrei	Reaktion des nach 2 Stunden abgepreßten Saftes	Reaktion des sofort abgepreßten Saftes
1:200000	negativ	negativ
1:100000	negativ	schwach
1: 50000	schwach	ziemlich stark
1: 25000	ziemlich stark	stark

Rhabarberblätterbrei wurde unter Zusatz der halben Gewichtsmenge Wasser eine halbe Stunde im siedenden Wasserbade erhitzt und dann erkalten gelassen. Von diesem Brei versetzte ich gleichgroße Mengen mit Formaldehyd und prüfte teils sofort, teils ließ ich vorher 24 Stunden bei Zimmertemperatur stehen, teils erhitzte ich eine Stunde lang in verschlossenen Glasstopfengläsern auf 100°. Das Ergebnis war folgendes:

Formaldehydzusatz zum Rhabarberblätterbrei	Sofort geprüft	Nach 24stündigem Stehen geprüft	Nach 1stündigem Erhitzen auf 100° geprüft
1:20000	stark	schwach	negativ
1:10000	sehr stark	deutlich	negativ

Frischer und erhitzter Roßkastanienblätterbrei verhielten sich ähnlich.

Mit frischem Spargelbrei (aus den als Gemüse dienenden, nicht ergrünten Trieben) machte ich folgenden Versuch: Je 25 g wurden mit 1 mg Formaldehyd versetzt (1:25000) und die Reaktionen des sofort ausgepreßten, sowie des 3 bzw. 6 Stunden mit dem Formaldehyd stehen gelassenen Breies festgestellt. Die Reaktionsstärke wurde nach einer Stunde ermittelt. Im ersten Falle war die Reaktion deutlich, im zweiten Falle schwach, im dritten negativ.

Aus diesen Versuchen ergibt sich, daß frischer und erhitzter Brei grüner und nicht grüner Pflanzenteile bei gewöhnlicher Temperatur und besonders beim Erhitzen Formaldehyd zerstören oder binden. So erklärt sich die Tatsache, daß bei den Destillationsversuchen der zweiten Versuchsreihe zugefügter Formaldehyd nicht wiedergefunden wurde.

Es ist hiermit höchst unwahrscheinlich geworden, daß durch Wasserdampfdestillation der Nachweis eines Formaldehydgehaltes von Blättern erbracht werden kann, denn etwa vorhandener Formaldehyd wird beim Erhitzen zerstört. Ob es gelingt, durch Zusätze die Zerstörung oder Bindung von Formaldehyd zu verhindern, ohne die Gefahr einer Bildung von Formaldehyd durch Zersetzung hervorzurufen, muß zunächst dahingestellt bleiben.

Versuchsreihe 4.

Endlich sei noch über Versuche berichtet, bei denen lebenden Blättern Formaldehyd einverleibt wurde.

2 Rhabarberblätter im Gewicht von 165 g mit etwa 10 cm langen Blattstielen wurden mit ihren Stielen in einer Formaldehydlösung 1 : 3300 etwa 48 Stunden stehen gelassen. In dieser Zeit sogen sie 225 ccm dieser Lösung auf und verringerten ihr Gewicht auf 152 g. Der Turgor der Blattstiele und größeren Rippen hatte bei Beendigung des Versuches merklich nachgelassen, es war Schädigung durch die Formaldehydlösung erfolgt.

Von den beiden Blättern wurde das eine noch 4 Stunden lang in reines Wasser gestellt, dann in Stiel, größere Blattrippen und Blattfläche zerlegt, und jeder dieser 3 Teile für sich zerkleinert und der Saft ausgepreßt und filtriert. Im Filtrate wurde auf Formaldehyd geprüft. Der Saft des Stieles gab ziemlich starke, der der Blattrippen schwache und der Saft der Blattfläche keine Formaldehydreaktion. Das 2. Blatt wurde sofort in gleicher Weise zerlegt und auf Formaldehyd geprüft. Der Saft des Stieles gab starke, der Saft der Blattrippen ziemlich starke und der Saft der Blattspreite keine Formaldehydreaktion. Die Formaldehydreaktion des Stielsaftes war schwächer als die der Lösung, in die die Blätter getaucht waren.

Bei einem weiteren Versuche waren 2 Rhabarberblätter im Gewichte von 150 g ebenfalls 48 Stunden in eine Formaldehydlösung 1 : 3300 gestellt worden, wobei 165 ccm dieser Lösung aufgenommen wurden. Alsdann wurden sie noch 16 Stunden in reines Wasser gestellt. Im Einklang mit den Versuchen der 2. Versuchsreihe war durch Wasserdampfdestillation ohne und mit Phosphorsäurezusatz weder in den Blattrippen noch in der Blattspreite Formaldehyd nachweisbar.

Um den etwaigen Einwand auszuschalten, daß die Blätter mit der Lösung nicht die entsprechenden Formaldehydmengen aufgenommen hätten, wurde in der ursprünglichen Lösung, dann in einer Lösung, deren Menge innerhalb 2 Tagen durch Einstellen von Rhabarberblättern von 600 auf 450 ccm vermindert war, und endlich in einer Lösung, deren Menge auf gleichem Wege in 16 Stunden von 120 ccm auf 50 ccm vermindert war, der Formaldehydgehalt colorimetrisch verglichen; hierbei fielen die Färbungen gleich aus, ein Beweis, daß mit der Lösung auch die entsprechende Formaldehydmenge in die Blätter übergegangen war.

Die lebenden Rhabarberblätter hatten also erhebliche Formaldehydmengen zerstört und eine Ansammlung von Formaldehyd verhindert. Die Flüssigkeitsmenge, die sie in 2 Tagen aufnahmen, um den durch Verdunstung entstandenen Verlust auszugleichen, war größer als ihr Eigengewicht. Dennoch war Formaldehyd in den Blattstielen nur in verminderter Menge, in der grünen Blattfläche gar nicht nachweisbar. Dabei war die Formaldehydkonzentration der aufgenommenen Lösung 30 fach größer als diejenige, die im Blättersaft noch nachweisbar ist. Die Formaldehydmenge wurde also in der lebenden Pflanze in verhältnismäßig kurzer Zeit von 1:3300 unter 1:100000 herabgesetzt. War auch eine weitere Verfolgung dieses Vorganges zunächst nicht möglich, so ist es doch wahrscheinlich, daß die Formaldehydzerstörung unterhalb der Konzentration 1:100000 weiter fortschreitet. Die Aussicht, Formaldehyd mit den bisher benutzten Mitteln in Pflanzen nachweisen zu können, wird damit sehr gering.

Das Ergebnis der bisherigen Versuche läßt keine Schlüsse auf die Richtigkeit oder Unrichtigkeit der Baeyerschen Assimilationshypothese zu.

Einfluß der Anaesthetica auf die Oxydone.

Von

F. Battelli und L. Stern.

(Aus dem Physiologischen Institut der Universität Genf.)

(Eingegangen am 19. Mai 1913.)

I.

Als Oxydone[1]) haben wir die unlöslichen Katalysatoren bezeichnet, die in den Tiergeweben enthalten sind und die Fähigkeit haben, die Oxydation verschiedener Substanzen zu beschleunigen.

Die Oxydone unterscheiden sich von den Oxydasen durch mehrere Eigentümlichkeiten, unter denen die folgenden die wichtigsten sind. Die Oxydasen (wie die Alkoholoxydase, die Urikoxydase usw.) gehen in den wässerigen Auszug der Gewebe über, während die Oxydone im wasserunlöslichen Rückstande verbleiben. Die Oxydasen können durch Behandeln der Gewebe mit dem mehrfachen Volumen Alkohol oder Aceton dargestellt werden, während bereits relativ schwache Lösungen von Alkohol oder Aceton (30 bis 40 %) die Oxydone gänzlich vernichten. Das Trypsin ist ohne Einfluß auf die Oxydasen, während es die Oxydone sehr rasch zerstört. Durch 15 Minuten langes Erwärmen der Gewebe oder deren wässeriger Auszüge auf 60° werden die Oxydasen nur wenig abgeschwächt, während unter denselben Bedingungen die Oxydone völlig vernichtet werden.

Die soeben angeführten Eigentümlichkeiten gestatten es, die Oxydasen von den Oxydonen leicht zu unterscheiden.

Den bisher am besten untersuchten Oxydonen haben wir folgende Bezeichnungen gegeben. Das Oxydon, das die Oxy-

---

[1]) Battelli und Stern, Caractères distinctifs entre les oxydases et les oxydones. Soc. de Biol. 74, 212, 1913.

dation der Bernsteinsäure zu Apfelsäure beschleunigt, bezeichnen wir als Succinicoxydon; das Oxydon, das die Oxydation des p-Phenylendiamins (oder eines Gemisches von p-Phenylendiamin + α-Naphthol) beschleunigt, haben wir als Phenylendiaminoxydon bezeichnet, und dem Oxydon, das die Verbrennung der Citronen-, Apfel- und Fumarsäure beschleunigt, den Namen Citricoxydon gegeben.

Die Oxydone müssen in zwei Gruppen eingeteilt werden: die stabilen und die labilen Oxydone.

Die stabilen Oxydone werden in ihrer Wirkungsfähigkeit durch wiederholtes Auswaschen der zerriebenen Gewebe mit Wasser nicht abgeschwächt und bleiben lange Zeit nach dem Tode des Tieres in den Geweben intakt. Das Succinicoxydon und das Phenylendiaminoxydon gehören zu diesen stabilen Oxydonen. Die labilen Oxydone werden durch zwei- bis dreimaliges Auswaschen der Gewebe vernichtet und ihre Wirkungsfähigkeit verschwindet oder nimmt nach dem Tode des Tieres je nach den Geweben mehr oder weniger schnell ab. Solch ein labiles Oxydon ist das Citricoxydon. Es muß noch bemerkt werden, daß das Antipneumin keinerlei Wirkung auf die stabilen Oxydone ausübt, während es das Citricoxydon in seiner Wirkung deutlich hemmt.

Die Oxydone kommen in den von uns daraufhin untersuchten Geweben in mehr oder minder großen Mengen vor. Diese Beobachtung verleiht dem Studium der Oxydone eine besondere Bedeutung, die wahrscheinlich eine wesentliche Rolle in dem Mechanismus der Hauptatmung der Gewebe spielen[1]).

Es wäre natürlich von großer Bedeutung, die Konstitution der Oxydone bestimmen zu können. Wir haben in dieser Rich-

---

[1]) Diese verschiedenen Ergebnisse, die wir hier in wenigen Worten zusammengefaßt haben, sind in einer Reihe von Arbeiten auseinandergesetzt, die wir in dieser Zeitschrift veröffentlicht haben. Die wichtigsten darunter sind die folgenden: Die Oxydation der Bernsteinsäure durch Tiergewebe **30**, 172, 1910. — Die Oxydation der Citronen-, Apfel- und Fumarsäure durch Tiergewebe **31**, 478, 1911. — Wirkung des Trypsins auf die verschiedenen Oxydationsvorgänge in den Tiergeweben **34**, 263, 1911. — Zur Kenntnis des Antipneumins **36**, 114, 1911. — Oxydation des p-Phenylendiamins durch die Tiergewebe **46**, 317, 1912. — Einfluß verschiedener Faktoren auf die Oxydation des p-Phenylendiamins durch die Tiergewebe **46**, 343, 1912.

tung bereits mehrere Untersuchungen angestellt. Wir haben das Trypsin auf die Gewebe einwirken gelassen, und wir haben die Beobachtung gemacht, daß dieses Ferment in den Geweben die Fähigkeit zerstört, die Bernsteinsäure sowie die Citronensäure zu oxydieren. Wir hatten hieraus geschlossen, daß man annehmen dürfte, daß das Trypsin entweder die spezifischen Körper zerstört, die diese Oxydationen bewirken, oder daß es durch Veränderung der physikalischen Struktur der Zelle wirkt. Die erste Hypothese setzt voraus, daß die die Oxydation der Bernsteinsäure und der Citronensäure bewirkenden Körper, die wir heute als Oxydone bezeichnen, eiweißartiger Natur sind.

Diese Hypothese steht allerdings nicht im Einklange mit der Hypothese von Fränkel und Dimitz[1]), wonach die wirksamen Substanzen bei der Gewebeatmung Phosphatidkörper seien. Palladin und Stanewitsch[2]) schreiben ebenfalls den Lipoiden eine aktive Rolle in der Pflanzenatmung zu. Warburg[3]) nahm an, daß die Oxydationsvorgänge in enger Beziehung zu dem physikalischen Zustande der Lipoide stehen.

Andererseits ist die aktive Rolle der Lipoide in den Oxydationsprozessen der Tiere von Vernon, gestützt auf zahlreiche und sehr sorgfältige Untersuchungen, von neuem verteidigt worden. In der Mehrzahl seiner Versuche hat Vernon als Reagens eine Mischung von p-Phenylendiamin und α-Naphthol benutzt, die durch oxydative Synthese Indophenolblau bildet. Vernon schreibt die Oxydation dieses Gemisches der Wirkung einer Oxydase zu, die er mit Kastle als Indophenoloxydase bezeichnet.

Dieser Katalysator ist jedoch keine Oxydase, sondern ein Oxydon, das wir als das Phenylendiaminoxydon bezeichnet haben.

In einer ersten Arbeit untersucht Vernon[4]) die Wirkung mehrerer lipoidlöslicher Substanzen (Alkohol, Chloroform, Äther, Phenol, Urethan

---

[1]) Fränkel und Dimitz, Gewebeatmung durch Intermediärkörper. Wiener klin. Wochenschr. 22, 1777, 1909.

[2]) Palladin und Stanewitsch, Die Abhängigkeit der Pflanzenatmung von den Lipoiden. Diese Zeitschr. 26, 359, 1910.

[3]) Warburg, Über Beeinflussung der Sauerstoffatmung. Zeitschr. f. physiol. Chem. 70, 413, 1911.

[4]) Vernon, The function of lipoids in tissue respiration and in the activity of oxydases. Journ. of Physiol. 45, 197, 1912.

usw.) auf die Indophenoloxydase. Er stellt die Behauptung auf, daß diese Gifte auf die Oxydase in der Weise einwirken, daß sie eine Lipoidmembran, die die Oxygenase und die Peroxydase zusammenhält, und auf diese Weise ihr Zusammenwirken ermöglicht, zerstören. Wir haben jedoch in einer jüngst erschienenen Arbeit [1]) auseinandergesetzt, daß es nicht möglich ist, die Teilnahme dieser beiden Körper an der Bildung des Phenylendiaminoxydons (oder der Indophenoloxydase von Vernon) zu beweisen.

In der soeben genannten Arbeit vergleicht Vernon die Kurve der Oxydonzerstörung mit der Kurve der Proteinkörperzertrümmerung der Niere, die durch die Menge der in der Zirkulationsflüssigkeit in Lösung befindlichen Eiweißsubstanzen angedeutet wird. Er findet, daß zwischen der durch eine lipoidlösliche Substanz hervorgerufenen Schädigung des Oxydons und der desintegrierenden Wirkung derselben auf die Nierenzellen kein bestimmtes Verhältnis existiert. Doch glaubt Vernon, daß jede Substanz, sobald sie in genügender Konzentration vorhanden ist, um die Gewebelipoide zu lösen, dadurch auch eine Vernichtung des Atmungsvermögens der Oxydase und einen Zerfall der Zellproteine verursacht. Wir werden später sehen, daß in unseren Versuchen die Anaesthetica in Konzentrationen, die die Oxydone zu beeinflussen anfangen, keine Lösung der Gewebeproteine, hingegen aber eine Fällung der Nucleoproteide bewirken.

In einer späteren Arbeit bestätigt Vernon [2]) seine Hypothese, daß die Wirkung der Indophenoloxydase von den in den Zellen enthaltenen Lipoiden abhängt. Die Versuche sind an der zerkleinerten Kaninchenniere ausgeführt, auf die man die verschiedenen Anaesthetica einwirken läßt. In schwacher Konzentration bewirken die meisten Anaesthetica eine Steigerung des Oxydationsvermögens der Gewebe. Vernon macht die interessante Beobachtung, daß die verschiedenen Anaesthetica erst in einer bestimmten Konzentration, die der zur völligen Vernichtung der Oxydase erforderlichen sehr nahe ist, eine deutliche Wirkung auf das Oxydationsvermögen ausüben. Er findet, daß die Konzentrationen der verschiedenen Alkohole (Äthyl-, Propyl-, Butylalkohol usw.), die die Wirkung der Oxydase zu hemmen beginnen, ungefähr dieselben oder etwas höher sind, als die von Fühner und Neubauer [3]) für die Hämolyse der roten Blutkörperchen angegebenen. Vernon sieht in dieser Übereinstimmung eine neue Stütze für seine Hypothese, daß die Wirkung

---

[1]) Battelli und Stern, Einfluß verschiedener Faktoren auf die Oxydation des p-Phenylendiamins durch die Tiergewebe. Diese Zeitschr. 46, 343, 1912.

[2]) Vernon, Die Abhängigkeit der Oxydasewirkung von Lipoiden. Diese Zeitschr. 47, 374, 1912.

[3]) Fühner und Neubauer, Quantitative Bestimmung der hämolytischen Wirkung einwertiger Alkohole. Centralbl. f. Physiol. 20, 117, 1906. — Dieselben, Hämolyse durch Substanzen homologer Reihen. Arch. f. exper. Pathol. u. Pharmakol. 56, 333, 1907.

der Indophenoloxydase von Lipoiden abhängig ist, vielleicht von Lipoidmembranen, die die Gewebeoxygenase und Peroxydase zusammenhalten. Vernon stellt für die verschiedenen Anaesthetica die Beziehungen fest, die zwischen der von Overton angegebenen narkotischen Konzentration und der zur Zerstörung von 50% des Oxydationsvermögens erforderlichen Konzentration existieren. Er findet, daß mit sehr wenigen Ausnahmen diese Beziehungen keine bedeutenden Abweichungen aufweisen. So schwankt z. B. dieses Verhältnis für die Alkohole, die Ketone, das Phenol und das o-Kresol nur zwischen 17 und 35. Es besteht also ein recht enger Parallelismus zwischen den zur Narkose erforderlichen Konzentrationen und den zur Vernichtung des Oxydationsvermögens nötigen.

Die Hypothese von Vernon über die Konstitution des Phenylendiaminoxydons (oder der Indophenoloxydase) steht mit der von uns in unserer Arbeit über die Wirkung des Trypsins auf die verschiedenen Oxydationsprozesse aufgestellten im Widerspruch. Wir sahen uns daher genötigt, die Untersuchungen von Vernon wieder aufzunehmen und den Einfluß der Anaesthetica auf die Oxydone einer eingehenderen Untersuchung zu unterziehen.

Wir haben angenommen, daß die Zerstörung der Oxydone durch die Anaesthetica durch eine Gerinnung oder irgendeine andere Veränderung der unlöslichen Gewebsproteine verursacht werden könnte. Um die Stichhaltigkeit dieser Hypothese zu prüfen, haben wir festzustellen gesucht, in welchen Konzentrationen die Anaesthetica die aus den Geweben extrahierten Nucleoproteide fällen, und in welchen Konzentrationen sie die Wirksamkeit der Oxydone herabsetzen.

Mehrere Forscher (Fletcher, Vernon, Battelli und Stern, Lussana usw.) haben den Einfluß verschiedener Anaesthetica auf die Intensität des respiratorischen Gaswechsels der Gewebe untersucht. Der Einfluß homologer Reihen der Alkohole, Urethane usw. ist jedoch zuerst von Warburg[1]) studiert worden, und zwar an den Erythrocyten des Gänseblutes. Warburg und Wiesel[2]) haben später diese Untersuchungen bedeutend erweitert, doch weichen dieselben von unseren hier zu besprechenden Untersuchungen ab, da wir hier bloß die Wirkung der Anaesthetica auf die Oxydone studieren und nicht auf die Atmung im allgemeinen, die bedeutend komplexer ist. Wir können aber schon jetzt erwähnen, daß die Resultate von Warburg und Wiesel von den von Vernon erzielten sowie von den unsrigen bedeutend abweichen. So finden Warburg und Wiesel, daß die durch die meisten Anaesthetica hervorgerufene Atmungshemmung der Blutzellen reversibel ist, während die Hemmung oder Vernichtung der Oxydone in unseren Versuchen eine definitive ist.

---

[1]) Warburg, Über Beeinflussung der Oxydationen in lebenden Zellen nach Versuchen an roten Blutkörperchen. Zeitschr. f. physiol. Chem. 69, 452, 1910.

[2]) Warburg und Wiesel, Über die Wirkung von Substanzen homologer Reihen auf Lebensvorgänge. Arch. f. d. ges. Physiol. 144, 465, 1912.

In dieser Arbeit untersuchen wir die Wirkung der Anaesthetica auf das Succinicoxydon, das als Typus der stabilen Oxydone betrachtet werden kann. Die Anwendung von Bernsteinsäure als Oxydonreagens bietet den Vorteil, daß diese Substanz sich nicht spontan oxydiert und auch durch Hämoglobin nicht verändert wird.

In einer ersten Reihe von Versuchen haben wir den Einfluß untersucht, den die verschiedenen Anaesthetica durch ihre Gegenwart auf die Oxydation der Bernsteinsäure durch die Gewebe ausüben. In einer zweiten Reihe von Versuchen untersuchen wir die zerstörende Wirkung der Anaesthetica auf das Succinicoxydon. Die zu untersuchende Substanz wird mit den Geweben in Kontakt gelassen und nach einer bestimmten Zeit durch wiederholtes Auswaschen der Gewebe aus denselben entfernt.

II. Methode.

Bestimmungen der Intensität der Bernsteinsäureoxydation. In den diesbezüglichen Versuchen ist die quantitative Bestimmung der Bernsteinsäureoxydation durch die Messung der Sauerstoffaufnahme ausgeführt worden.

In den Versuchen, in denen der Muskel als Reagens verwandt wurde, genügte es, einfach die Sauerstoffaufnahme zu bestimmen, da wir stets Muskeln benutzten, die durch vorheriges Auswaschen ihre Atmung ganz oder fast gänzlich eingebüßt hatten. In den Versuchen, in denen als Reagens die Leber benutzt wurde, mußte man auch die eigentliche Atmung dieses Gewebes in Betracht ziehen. Wenn man die Leber einige Stunden nach dem Tode des Tieres benutzt, so hat man es nur mit der akzessorischen Atmung zu tun, auf die die Bernsteinsäure keinen merklichen Einfluß ausübt. Es genügt also die Steigerung der Sauerstoffaufnahme zu messen, um die Intensität der Bernsteinsäureoxydation zu bestimmen.

Um aus der Sauerstoffaufnahme die Menge der oxydierten Bernsteinsäure zu berechnen, genügt es, in Erwägung zu ziehen, daß 1 g Bernsteinsäure 95 ccm O_2 zur Oxydation zu Apfelsäure verbraucht.

Allgemeine Methode. Die in den vorstehenden Versuchen benutzte Methode ist im Prinzip dieselbe, die wir in unseren früheren Untersuchungen über die Atmung isolierter Gewebe, die Urikoxydase usw. angewandt haben. Das Gewebe wird in einer Fleischhackmaschine fein zerrieben und mit einer genügenden Menge Flüssigkeit (150 ccm Wasser z. B. für 50 g Gewebe) versetzt, um daraus ein flüssiges Gemenge zu erhalten. Die Gewebesuspension wird in eine große Flasche gebracht und in einer Sauerstoffatmosphäre energisch geschüttelt. Eine Flasche dient als Kontrollprobe. In die andere Flasche fügt man die nötige Menge

Bernsteinsäure in Form von bernsteinsaurem Natrium hinzu. Während der ganzen Dauer des Versuches tauchen die Flaschen in das Wasser eines Thermostaten. Am Ende des Versuches wird die Menge des aufgenommenen Sauerstoffs nach den üblichen Methoden berechnet.

Zubereitung des Muskelrückstandes. Zu je 50 g fein zerriebenen Gewebes fügt man 150 ccm Wasser hinzu, schüttelt 5 Minuten lang durch und preßt das ganze durch ein Leinwandtuch. Zum Muskelrückstand fügt man von neuem 150 ccm Wasser hinzu und preßt nach längerem Umrühren durch ein Leinwandtuch. Der auf diese Weise bereitete Muskelrückstand weist keine eigentliche Atmung mehr auf, so daß mit Sicherheit behauptet werden kann, daß der gesamte nach Zusatz von Bernsteinsäure aufgenommene Sauerstoff zur Oxydation der Bernsteinsäure verbraucht wird. Zum ausgewaschenen Muskelrückstand fügt man 150 ccm Wasser hinzu, so daß eine Gewebesuspension erzielt wird.

Versuchsbedingungen. Dieselben werden für jede Gruppe von Versuchen in den entsprechenden Kapiteln eingehend beschrieben werden.

III. Intensität der Bernsteinsäureoxydation durch die Muskeln und die Leber.

Die Versuche, deren Ergebnisse wir in dieser Arbeit mitteilen, sind größtenteils an dem Zwerchfellmuskel des Rindes und an der Leber des Hammels ausgeführt worden.

Die Werte, die sich auf die Intensität der Bernsteinsäureoxydation durch die genannten Gewebe beziehen, haben wir bereits in einer früheren Arbeit über die Oxydation der Bernsteinsäure (diese Zeitschr. 30, 172, 1910) mitgeteilt. In einer reinen Sauerstoffatmosphäre und bei einer Temperatur von 40° nehmen 100 g Muskel nach Zusatz von 6 g bernsteinsaurem Natrium durchschnittlich 125 ccm O_2 im Laufe einer halben Stunde auf. Unter denselben Bedingungen nehmen 100 g Hammelleber 140 ccm O_2 zur Oxydation der Bernsteinsäure auf.

In den Tabellen werden wir die absoluten Werte der bei der Oxydation der Bernsteinsäure aufgenommenen Sauerstoffmengen nicht angeben. Die von uns soeben angeführten Zahlen werden genügen, denn die Abweichungen sind bei normalen Individuen nur unbedeutend.

IV. Einfluß der verschiedenen Anaesthetica auf die Intensität der Bernsteinsäureoxydation.

In dieser ersten Reihe von Versuchen haben wir den Einfluß untersucht, den die verschiedenen Anaesthetica auf die Intensität der Bernsteinsäureoxydation durch die Muskeln des Rindes und die Leber des Hammels ausüben. Am Ende des Versuches haben wir das Gemenge zentrifugiert, um eine Vorstellung von dem Aussehen der Flüssigkeit zu gewinnen. Der Muskel liefert eine nur wenig trübe Flüssigkeit und die Aufhellung derselben ist schwerer zu verfolgen als bei der Leber. In der Tabelle I haben wir angegeben, bei welcher Konzentration der ver-

schiedenen Narkotica die aus der Leber erhaltene Flüssigkeit klar und durchsichtig wird, was der völligen Fällung der Nucleoproteide entspricht.

Wir haben in diesen Versuchen vom Äther Abstand genommen, da dieser Körper selbst in schwachen Konzentrationen beim Schütteln des Gemisches bei 40° eine nicht unbedeutende Dampfmenge entwickelt, durch die die Bestimmung des aufgenommenen Sauerstoffvolumens erschwert worden wäre.

In allen hierher gehörigen Versuchen haben wir 30 g Gewebe und 70 ccm Flüssigkeit (Wasser + Anaestheticum) verwandt. Bei der Konzentrationsberechnung der verschiedenen Anaesthetica wurde 1 g Gewebe als gleichwertig mit 1 ccm Flüssigkeit betrachtet.

In der Tabelle I stellen wir die Konzentrationswerte der Anaesthetica zusammen, die erforderlich sind, um eine Abnahme der Intensität der Bernsteinsäureoxydation um 15 bis 20% zu bewirken, und diejenigen, die zur völligen Hemmung der Bernsteinsäureoxydation erforderlich sind.

Tabelle I.

Einfluß der verschiedenen Anaesthetica auf die Intensität der Bernsteinsäureoxydation und auf die vollständige Fällung der Nucleoproteide der Leber. In allen diesen Versuchen betrug die Dauer des Schüttelns 30 Minuten und die Temperatur des Thermostaten 40°. Die Flaschen waren mit reinem Sauerstoff gefüllt.

Anaesthetica	Muskeln		Leber		
	Verringerung um 15 b. 20%	Vernichtung	Verringerung um 15 b. 20%	Vernichtung	Klare Flüssigkeit
Methylalkohol	m-3,68	m-6,05	m-3,15	m-5,78	m-6,31
Äthylalkohol	1,22	3,17	1,58	2,97	3,33
Propylalkohol	0,75	1,19	0,68	1,09	1,44
Isobutylalkohol	0,25	0,44	0,24	0,41	0,46
Isoamylalkohol	0,14	0,19	0,13	0,18	0,24
Allylalkohol	0,89	1,64	0,67	1,34	1,49
Paraldehyd	0,26	0,53	0,26	0,49	0,64
Chloroform	0,05	0,18	0,04	0,14	—
Aceton	1,27	2,53	1,18	2,39	2,67
Methyläthylketon	0,47	0,94	0,38	0,82	0,94
Methylpropylketon	0,18	0,38	0,13	0,34	0,39
Äthylurethan	0,33	0,92	0,36	0,95	1,06
Propylurethan	0,21	0,43	0,18	0,39	0,48
Chloral	0,14	0,24	0,11	0,23	0,26
Anilin	0,09	0,19	0,07	0,17	0,21
Pyridin	0,24	0,41	0,14	0,40	0,45
Phenol	0,04	0,07	0,03	0,06	0,08
o-Kresol	0,025	0,041	0,019	0,037	0,055
Antipyrin	0,07	0,34	0,05	0,29	0,37

Aus den in dieser Tabelle zusammengestellten Resultaten ersieht man, daß der Einfluß der Anaesthetica auf die Leber

sich stärker geltend macht, als auf die Muskeln. Doch sind die Unterschiede im allgemeinen sehr schwach. Für die Mehrzahl der daraufhin untersuchten Anaesthetica weist das Verhältnis zwischen der zur völligen Hemmung der Oxydation nötigen Konzentration und derjenigen, die eine Verringerung der Oxydationsenergie um 15 bis 20^0 bewirken, keine sehr großen Werte auf. So beträgt dieses Verhältnis für die Alkohole, Paraldehyd, Aceton, Chloral, Phenol und o-Kresol kaum mehr als 2. Für Methyläthylketon, Methylpropylketon, Äthylurethan, Anilin und Pyridin liegt dieser Wert zwischen 2 bis 3. Viel höher ist dieses Verhältnis für Antipyrin, wo es den Wert 6 erreicht. Im allgemeinen ist das Verhältnis der beiden Konzentrationen für die Leber etwas höher als für die Muskeln.

In der Tabelle I zeigt sich bereits, daß die Konzentration der Anaesthetica, die nötig ist, um nach Zentrifugieren eine klare, von Nucleoproteiden freie Flüssigkeit zu erhalten, sich der zur völligen Aufhebung der Bernsteinsäureoxydation erforderlichen Konzentration stark nähert. Wir werden auf diesen Punkt sowie auf andere sich aus der Tabelle I ergebenden Betrachtungen in den folgenden Kapiteln zurückkommen.

V. Fällung der Nucleoproteide der Leber durch die verschiedenen Anaesthetica.

Wie wir bereits gesagt haben, sind wir von der Annahme ausgegangen, daß die Zerstörung der Oxydone durch die Anaesthetica einer Gerinnung oder irgendeiner anderen Veränderung der unlöslichen Proteine der Gewebe zugeschrieben werden könnte.

Warburg und Wiesel[1]) haben die Beobachtung gemacht, daß die verschiedenen Anaesthetica in dem Hefepreßsaft eine Niederschlagsbildung hervorrufen und daß die Konzentrationen, die diese Fällung bewirken, annähernd dieselben sind, wie die zur Hemmung der Oxydationsvorgänge erforderlichen. Warburg und Wiesel erwähnen jedoch nicht, welcher Art die gefällten Substanzen sind und schließen auch nicht auf eine Mitwirkung von Proteinkörpern in den Oxydationsvorgängen.

Um einen besseren Einblick in diese Wirkung der Anaesthetica auf die Proteine zu gewinnen, haben wir eine Lösung von Nucleoproteiden der Wirkung der verschiedenen Anaesthetica unterworfen. Es ist wahrscheinlich, daß unter den in Wasser löslichen Proteinsubstanzen die Nucleoproteide sich am meisten den in den Geweben enthaltenen unlöslichen Proteinen nähern. Die zur Fällung der Nucleoproteide er-

[1]) loc. cit.

forderlichen Konzentrationen sind niedriger als die zur Fällung der Proteinsubstanzen des Blutserums nötigen Konzentrationen. Außerdem bewirken gewisse Anaesthetica, wie z. B. der Äther, überhaupt keine Fällung der Proteinsubstanzen des Serums oder des Hühnereiweißes, wie groß auch die angewandten Konzentrationen seien. Diese Beobachtungen zeigen, daß es vorzuziehen ist, in den Versuchen die Anaesthetica auf die Nucleoproteide einwirken zu lassen, anstatt auf die anderen weniger komplizierten Proteinkörper.

Mehrere Forscher haben die Fällung der Proteinkörper durch die verschiedenen Anaesthetica und namentlich durch die Alkohole untersucht.

Brunton und Martin[1]) haben das Fallungsvermögen der Alkohole und der Aldehyde untersucht. Sie haben die verschiedenen Substanzen in unverdünntem Zustande verwandt und die zur Fällung der Proteine nötigen Konzentrationen nicht bestimmt.

Tebb[2]) hat die Fällung verschiedener Proteinsubstanzen durch Äthylalkohol eingehend studiert. Er findet, daß die zur Fällung der verschiedenen Eiweißkörper nötigen Konzentrationen sehr verschieden sind. So wird z. B. das Fibrinogen durch Alkohol in einer Konzentration von 30 % gefällt, das Eiereiweiß durch 40 %, das Serumeiweiß durch 50 % und das Milcheiweiß durch 80 bis 90 % Alkohol usw. Die Resultate von Tebb betr. die Alkoholkonzentration, die zur Fällung des Eiereiweißes nötig ist, weichen von den Angaben von Spiro und von Cooper bedeutend ab.

Aus diesen Untersuchungen von Tebb geht hervor, daß es nötig ist, für jede einzelne Proteinsubstanz zu bestimmen, bei welcher Konzentration eines gegebenen Anaestheticums Fällung eintritt. Spiro[3]) hat das Fällungsvermögen der verschiedenen Alkohole am Eiereiweiß untersucht. Er findet, daß der Methylalkohol in einer Konzentration von 17 bis 20 % das Eiweiß fällt, der Äthylalkohol in einer Konzentration von 16 bis 18 %, der Propylalkohol in einer Konzentration von 11 bis 13 %, der Butylalkohol in einer Konzentration von 4 bis 6 % und der Amylalkohol in einer Konzentration von 2 bis 4 %. Der Isopropylalkohol ist viel weniger wirksam als der normale Propylalkohol, er bewirkt Fällung erst in einer Konzentration von 20 bis 24 %. Desgleichen ist der Isobutylalkohol weniger wirksam als der normale Butylalkohol.

Moore und Roaf[4]) haben die fällende Wirkung des Chloroforms

---

[1]) Brunton and Martin, The action of alcohols and aldehydes on proteid substances. Journ. of Physiol. 12, 1, 1891.

[2]) Tebb, The precipitation of proteids by alcohol and certain other reagents. Journ. of Physiol. 30, 25, 1903.

[3]) Spiro, Die Fällung von Kolloiden. Beiträge z. chem. Physiol. u. Pathol. 4, 300, 1903.

[4]) Moore and Roaf, On certain physical and chemical properties of solution of chloroform in water, saline, serum and haemoglobin. Proc. Roy. Soc. 73, 382, 1904.

auf die Proteinsubstanzen untersucht. Sie haben die Beobachtung gemacht, daß Chloroform im Überschuß (2% z. B.) die Proteine des Serums namentlich bei 40° innerhalb 24 bis 48 Stunden fällt.

Simon hat in einer Reihe von Arbeiten den Einfluß verschiedener Alkohole, des Acetons usw. auf das Blutserum in bezug auf Hitzegerinnung, elektrische Leitfähigkeit, Viscosität usw. untersucht. Die verschiedenen Resultate seiner Untersuchungen hat er in einer letzten Arbeit[1]) zusammengestellt. Wir wollen uns hier nur auf die Angaben betreffend die Fällung der Serumproteine beschränken. Methylalkohol und Aceton bewirken eine Fällung in einer Konzentration von ungefähr 40%, der normale Propylalkohol bewirkt bei 25% eine Gelatinisierung und nur bei 80% ruft er eine Fällung hervor; der Allylalkohol ruft in einer Konzentration von 40% eine Gelatinisierung und erst bei 80% eine Fällung hervor.

Über die Wirkung der Phenole auf die Proteinkörper sind mehrere Arbeiten veröffentlicht worden. Man weiß seit längerer Zeit, daß mehrere dieser Substanzen wie Phenol, die Kresole, Thymol usw., die gleichzeitig Antiseptica sind, sich mit den Proteinsubstanzen verbinden. Spiro[2]) hat mehrere Untersuchungen über die Wirkung dieser aromatischen Substanzen ausgeführt. Er findet, daß die Eiweißfällung durch Phenol selbst im Überschusse nicht vollständig ist. Die höheren aromatischen Alkohole (Brenzkatechin, Pyrogallol usw.) fällen nur in höheren Konzentrationen, und die Fällung ist auch hier unvollständig.

Cooper[3]) hat unter anderem die fällende Wirkung des Phenols und der Kresole auf Lösungen von Gelatine und Eiereiweiß untersucht. Eiereiweiß wird leichter gefällt als Gelatine. In einer 10%igen Lösung von Gelatine bewirkt Phenol erst in einer Konzentration von 2,5% eine merkliche Fällung, während eine 10%ige Lösung von Eiereiweiß durch Phenol schon in einer Konzentration von 1% getrübt wird, durch 1,5% leicht gefällt und durch 2% vollständig gefällt wird. Die Kresole in gesättigter Lösung (1,25%) fällen Gelatine nicht, hingegen wird das Eiereiweiß durch dieselben in einer Konzentration von 0,7% gefällt.

In einer zweiten Arbeit untersucht Cooper[4]) den Zusammenhang zwischen der bactericiden Wirkung der Phenole und ihrer eiweißfällenden Wirkung. Er bemerkt, daß diese beiden Wirkungen parallel sind. Immerhin ist das Verhältnis kein vollkommenes, was sich durch die Tatsache erklären läßt, daß die Bakterieneiweißkörper mit dem Eiereiweiß nicht identisch sind. Cooper hat außerdem die fällende Wirkung mehrerer

---

[1]) Simon, Ricerche sulla coagulazione dell' albumina. Arch. di Fisiologia 5, 479, 1908.

[2]) Spiro, l. c.

[3]) Cooper, On the relation of phenol and meta-cresol to proteins. A contribution to our knowledge of the mechanism of disinfection. Biochem. Journ. 6, 362, 1912.

[4]) Cooper, On the relations of the phenols and their derivatives to proteins. Biochem. Journ. 7, 175, 1913.

anderer Substanzen der aromatischen Reihe (Trinitrophenol, Pyrogallol usw.) der Alkohole und des Acetons untersucht. Das Eiereiweiß wird bei 20° innerhalb 1 Stunde durch Methylalkohol und durch Äthylalkohol in einer Konzentration von 20%, durch Propylalkohol und durch Aceton in einer Konzentration von 12% gefällt.

In unseren Untersuchungen haben wir als Nucleoproteidpräparat die wässerigen Auszüge der Hammelleber benutzt. Die Leber wird fein zerrieben, mit dem dreifachen Volumen Wasser versetzt und unter häufigem Umrühren 1/2 Stunde lang in Kontakt gelassen. Der flüssige Tei wird abgehoben und hierauf 15 bis 20 Minuten lang energisch zentrifugiert. Man erhält auf diese Weise eine trübe Flüssigkeit, auf die man die zu untersuchende narkotische Substanz einwirken läßt.

Die narkotische Substanz wird in 30 ccm Wasser gelöst, und diese Lösung wird nach und nach zu 20 ccm des wässerigen Leberauszuges hinzugesetzt. Das Reaktionsgemisch wird während 15 Minuten bei 15° oder 40° in einem Schüttelapparate energisch geschüttelt. Man zentrifugiert in graduierten Röhren, bis der Bodensatz ein konstantes Volumen erreicht, und man mißt die Höhe des auf diese Weise gebildeten Bodensatzes. Nicht alle Anaesthetica lassen sich für diese Untersuchungen verwenden. In bezug auf die Wirksamkeit können nur diejenigen Anaesthetica benutzt werden, die eine genügend große Löslichkeit in Wasser besitzen. Eine größe Anzahl von wenig löslichen narkotischen Substanzen greifen die Oxydone nicht an und bewirken auch keine Fällung der Nucleoproteide, selbst in gesättigter Lösung. Wir haben in unseren Untersuchungen nur hinreichend lösliche Anaesthetica benutzt.

Setzt man zum Leberauszuge eine Lösung von steigender Konzentration eines gegebenen Narkoticums hinzu, so bemerkt man, daß der Bodensatz nach erfolgtem Zentrifugieren zuerst leicht zunimmt. Schließlich gelangt man zu einer Konzentration, bei der eine plötzliche und recht große Zunahme des Bodensatzes erfolgt. Wir werden diesen Konzentrationsgrad als kritische Konzentration bezeichnen. Die Trübung der überstehenden Flüssigkeit hat bedeutend abgenommen, ist aber noch nicht ganz verschwunden. Zusatz von verdünnter Essigsäure bewirkt noch eine reichliche Fällung von Nucleoproteiden. Steigert man die Konzentration des Narkoticums noch weiter, so nimmt der Umfang des Bodensatzes vorerst noch zu, wird aber bald konstant. Die überstehende Flüssigkeit wird klar und durchsichtig, und Zusatz von verdünnter Essigsäure bewirkt keine Fällung mehr. Man hat also einen zweiten Grad in der Konzentration des Anaestheticums erreicht, der die vollständige Fällung der im Auszuge enthaltenen Nucleoproteide bewirkt. Wir wollen denselben als Grenzkonzentration bezeichnen.

So erzielt man z. B. folgende Resultate, wenn man, nach Einwirkung verschiedener Konzentrationen von Chloral auf den Leberauszug bei 40° während 15 Minuten, die verschiedenen Reaktionsgemische zentrifugiert. In dem Röhrchen, in dem 1,6% Chloralhydrat enthalten war, ist der Bodensatz etwas größer als in der Kontrollprobe, die kein Chloralhydrat enthielt. Der Bodensatz steigt progressiv, aber nur schwach in

den Röhrchen an, in denen die Konzentration des Chloralhydrats 1,9 % und 2,2 % beträgt. Aber in dem Röhrchen, das 2,5 % Chloralhydrat enthält, bemerkt man eine sehr große Zunahme des Bodensatzes, dessen Umfang 2 bis 3 mal so groß ist wie derjenige des Röhrchens, in dem die Konzentration des Chloralhydrats 2,2 % betrug. Die überstehende Flüssigkeit ist noch etwas trübe, und Zusatz von verdünnter Essigsäure bewirkt noch eine ansehnliche Fällung. Der Umfang des Bodensatzes nimmt noch deutlich zu, wenn die Konzentration des Chloralhydrats auf 3 bis 3,5 % ansteigt.. Sobald diese Konzentration erreicht wird, wird die überstehende Flüssigkeit völlig klar und durchsichtig und Zusatz von Essigsäure bewirkt keine Fällung mehr. Es ist dies die Grenzkonzentration des Chlorals.

Bei dieser Grenzkonzentration sind aber nicht alle Proteinkörper des Leberauszugs vollig gefällt worden. Die nach erfolgtem Zentrifugieren überstehende klare Flüssigkeit weist beim Sieden eine erhebliche Gerinnung auf. Die Niederschläge, die unter dem Einflusse der verschiedenen Anaesthetica entstehen, werden irreversibel, sobald die kritische Konzentration erreicht ist. Der Bodensatz löst sich nicht mehr im Wasser. Die zur Nucleoproteidfällung nötigen Konzentrationen der Anaesthetica sind je nach den Versuchsbedingungen sehr verschieden.

Die Temperatur übt einen bedeutenden Einfluß auf die Wirkung der Anaesthetica aus. Wir haben unsere Versuche bei 15° und bei 40° ausgeführt. Wir werden später sehen, daß bei 40° die Fällung der Nucleoproteide durch bedeutend niedrigere Konzentrationen erreicht wird als bei 15°. Daraus ergibt sich, daß die kritische Konzentration sowie die Grenzkonzentration eines gegebenen Anaestheticums bei 15° und bei 40° ganz verschieden sind, wie aus den Tabellen II und III ersichtlich ist.

Die Dauer des Kontakts ist ebenfalls von Wichtigkeit, namentlich wenn der Versuch bei einer Temperatur von 15° ausgeführt wird. In unseren Versuchen haben wir den Kontakt 15 Minuten lang währen lassen, gerechnet vom Augenblick, in dem der Leberauszug mit dem Anaestheticum vermischt wurde, bis zum Beginne der Zentrifugation.

Das Schütteln beschleunigt die Fällung der Nucleoproteide durch die Anaesthetica. In unseren Versuchen haben wir das Reaktionsgemisch energisch geschüttelt. Die auf diese Weise erzielten Resultate sind besser vergleichbar mit den Ergebnissen unserer Versuche betreffend die Vernichtung der Oxydone durch die Anaesthetica, wo durch das Schütteln eine engere Berührung des Muskelgewebes mit der Flüssigkeit ermöglicht wurde.

In den Tabellen II und III geben wir für jedes Anaestheticum die Werte der kritischen Konzentration und der Grenzkonzentration an. Die erforderlichen Konzentrationen, um die Nucleoproteide der Leberauszüge des Hammels zu fällen, sind nicht immer die gleichen, sondern können recht deutliche Abweichungen zeigen, die bis zu 20 % von einem Gewebe zum andern betragen könnem. Die in den Tabellen II und III angeführten Werte stellen Durchschnittszahlen vor.

VI. Zerstörung des Succinicoxydons (irreversible Wirkung) durch die Anaesthetica. Verhältnis zwischen den oxydonzerstörenden und den Fällung bewirkenden Konzentrationen.

In den hierher gehörigen Versuchen haben wir die zerstörende Wirkung untersucht, die die verschiedenen Anaesthetica auf das Succinicooxydon ausüben. Diese Versuche sind analog den von Vernon[1]) ausgeführten. Vernon hat die Niere benutzt. Wir haben die Muskeln benutzt, die sich zu diesen Versuchen besser eignen, da sie leichter ausgewaschen werden können. Der Rindermuskel kam 3 bis 6 Stunden nach dem Tode des Tieres zur Verwendung.

Die zerstörende Wirkung der Anaesthetica wurde bei 15° und bei 40° untersucht.

Wir verfuhren hierbei in folgender Weise. Das zu untersuchende Anaestheticum wurde in 70 ccm Wasser gelöst und hierauf 30 g zerriebenen Muskels hinzugesetzt. Das Reaktionsgemisch wurde 15 Minuten lang bei 15° oder 40° energisch geschüttelt und hierauf durch ein Leinwandtuch gepreßt. Der Rückstand wird mit 1 Liter Wasser versetzt, 10 Minuten lang unter häufigem Umrühren in Kontakt gelassen und von neuem durch ein Leinwandtuch gepreßt. Auf dieselbe Weise wird ein zweites Mal gewaschen, und zum Rückstand 70 ccm Wasser und 2 g bernsteinsaures Natrium hinzugefügt. Die Flasche wird mit reinem Sauerstoff gefüllt und bei 40° wie gewöhnlich energisch geschüttelt. Es versteht sich von selbst, daß als Kontrolle Muskel benutzt wurde, der ohne Zusatz von Anaestheticum auf dieselbe Weise behandelt wurde.

Als Anaesthetica haben wir größtenteils die von Vernon benutzten Substanzen verwandt. Wir haben außerdem den Allylalkohol, das Chloralhydrat, Antipyrin, Anilin und Pyridin untersucht. Hingegen aber haben wir die Ester der Fettsäuren (Äthylformiat, Äthylacetat, Propylacetat usw.) fortgelassen, da diese Ester durch die Gewebe schnell verseift werden und die hierbei in Freiheit gesetzten Säuren das Oxydon zum Teil zerstören können, wie es bereits Vernon bemerkt hat.

Für jedes Anaestheticum geben wir in den Tabellen II und III die Werte zweier Konzentrationen an. Die schwächere Konzentration ist diejenige, die eine deutliche Verminderung (15 bis 20%) der Wirksamkeit des Succinicoxydons bewirkt hat. Die höhere Konzentration ist diejenige, die das Oxydon völlig vernichtet hat. Wir haben die Vernichtung als vollkommen angesehen auch dann, wenn die Intensität der Bernsteinsäureoxydation durch den Muskel auf 4 bis 5% des normalen Wertes reduziert war. Die in den folgenden Tabellen II und III wiedergegebenen Werte stellen Durchschnittszahlen aus mindestens 5 Versuchen für jedes Anaestheticum vor. Das Succinicoxydon des Rindermuskels zeigt nicht immer die gleiche Widerstandsfähigkeit gegenüber einem gegebenen Anaestheticum, doch betragen diese Abweichungen kaum mehr als 25%.

[1]) Vernon, diese Zeitschr. 47, 374, 1912.

In den Tabellen II und III stehen nebeneinander die Konzentrationswerte, die die Fällung der Nucleoproteide des Leberauszuges (siehe Kapitel V) bewirken, und die Konzentrationen, die die Tätigkeit des Succinicooxydons verringern oder vernichten. Man kann sich auf diese Weise von dem Parallelismus dieser beiden Phänomene ein besseres Bild machen.

Tabelle II.

Konzentrationen der verschiedenen Anaesthetica, die eine Fällung der Nucleoproteide des Leberauszuges und die Vernichtung des Succinicooxydons des Rindermuskels nach vorherigem 15 Minuten langem Schütteln bei 15° bewirken.

Die kritische Konzentration ist diejenige, die eine plötzliche und starke Steigerung der Nucleoproteidfällung hervorruft. Die Grenzkonzentration ist diejenige, die eine vollständige Fällung der Nucleoproteide bewirkt.

Anaesthetica	Kritische Konzentration	15 bis 20% des Oxydons zerstörende Konzentration	Grenzkonzentration	Völlige Vernichtung des Oxydons
Methylalkohol	m-10,66	m-9,36	m-12,48	m-11,44
Äthylalkohol	6,12	4,93	6,97	6,12
Propylalkohol	1,90	1,50	2,72	2,04
Isobutylalkohol	1,14	0,74	—[1]	1,06
Isoamylalkohol	—[1]	0,28	—[1]	0,41
Allylalkohol	2,70	2,10	4,05	2,70
Paraldehyd	—[1]	0,90	—[1]	—[1]
Äther	—[2]	0,89	—	—[3]
Chloroform	0,11[4]	0,15[4]	0,20[4]	0,22[4]
Aceton	2,94	4,48	4,34	5,70
Methyläthylketon	1,64	1,64	2,46	2,22
Methylpropylketon	—[1]	0,48	—[1]	0,77
Äthylurethan	1,79	1,34	2,58	1,90
Propylurethan	—[1]	0,78	—[1]	—[1]
Chloral	0,33	0,42	0,57	0,63
Antipyrin	—[5]	0,50	—[5]	1,32
Anilin	0,26	0,23	0,39	0,35
Pyridin	0,83	0,80	1,08	1,02
Phenol	0,22	0,06	0,29	0,13
o-Kresol	0,09	0,03	0,14	0,07

[1]) Wird durch eine gesättigte Lösung nicht bewirkt.

[2]) Keine Fällung bei einer Konzentration von m-3,96.

[3]) Die Zerstörung ist unvollständig bei einer Konzentration von m-3,96.

[4]) Das Chloroform ist in diesen Konzentrationen nicht völlig gelöst.

[5]) Die Fällung der Nucleoproteide erfolgt sehr langsam. Sie findet innerhalb 15 Minuten nicht statt, selbst bei einer Konzentration von m-2,65, ist aber vollständig nach Ablauf von 6 Stunden bei einer Konzentration von m-1,43.

Tabelle III.

Konzentrationen der verschiedenen Anaesthetica, die die Fällung der Nucleoproteide des Leberauszuges, sowie die Zerstörung des Succinicoxydons des Rindermuskels nach vorherigem 15 Minuten langem Schütteln bei 40° bewirken.

Die Bezeichnungen kritische Konzentration und Grenzkonzentration haben dieselbe Bedeutung wie in der Tabelle II.

Anaesthetica	Kritische Konzentration	15 bis 20 % des Oxydons zerstörende Konzentration	Grenzkonzentration	Vernichtung des Oxydons
Methylalkohol . .	m-5,70	m-5,72	m-7,24	m-7,54
Äthylalkohol . . .	2,88	2,72	3,50	3,57
Propylalkohol . .	1,12	0,80	1,49	1,16
Isobutylalkohol . .	0,45	0,29	0,63	0,44
Isoamylalkohol . .	0,21	0,13	0,26	0,19
Allylalkohol . . .	1,85	1,12	1,75	1,80
Paraldehyd . . .	0,36	0,40	0,60	0,80
Äther	0,44	0,40	0,94	0,77
Chloroform	0,14[1]	0,11	0,19	0,17
Aceton	1,61	1,58	2,17	2,38
Methyläthylketon .	0,70	0,57	1,05	0,88
Methylpropylketon	0,36	0,21	0,53	0,32
Äthylurethan . . .	0,82	0,62	1,10	1,03
Propylurethan . .	0,37	0,27	0,52	0,47
Chloral	0,14	0,13	0,23	0,21
Antipyrin	0,31	0,25	0,45	0,41
Anilin	0,11	0,10	0,19	0,21
Pyridin	0,44	0,32	0,61	0,51
Phenol	0,08	0,04	0,13	0,08
o-Kresol	0,04	0,02	0,07	0,05

Aus den in den Tabellen II und III zusammengestellten Ergebnissen lassen sich zahlreiche Schlüsse ziehen. Wir wollen uns hier nur auf die beschränken, die in einem direkteren Zusammenhange mit unseren Untersuchungen stehen.

Man beobachtet vor allem, daß für die Mehrzahl der Anaesthetica die Werte der kritischen und der Grenzkonzentrationen (siehe Kapitel V) sich den Konzentrationen, die das Oxydon deutlich vermindern oder gänzlich vernichten, sehr stark nähern. Ein solches Verhalten zeigen die Alkohole, die Ketone, die Urethane, der Paraldehyd, der Äther, das Chloroform, das Chloralhydrat, das Antipyrin, das Anilin, das Pyridin.

Die Übereinstimmung zwischen den fällenden Konzentra-

[1]) Chloroform ist in diesen Konzentrationen nicht vollständig löslich.

tionen und den das Oxydon zerstörenden beobachtet man sowohl bei 15° als auch bei 40°.

Im allgemeinen sind die fällenden Konzentrationen höher als die das Oxydon zerstörenden, doch gibt es hiervon einige Ausnahmen (für das Aceton und das Chloralhydrat z. B. bei 15°). Es darf übrigens nicht vergessen werden, daß es sich um Durchschnittswerte handelt und daß die Resultate von einem Gewebe zum andern Abweichungen aufweisen. Dieselben sind allerdings nicht sehr bedeutend, wie wir es bereits gesagt haben.

Das Phenol und das o-Kresol verhalten sich ein wenig anders. Für diese beiden Substanzen sind die das Oxydon vernichtenden Konzentrationen bedeutend niedriger als die fällenden Konzentrationen, namentlich bei 15°.

Für die große Mehrzahl der Anaesthetica sind die fällenden sowie die das Oxydon vernichtenden Konzentrationen bei 15° viel höher als bei 40°. Das Verhältnis zwischen den das Oxydon bei 15° vernichtenden Konzentrationen und den bei 40° wirkenden schwankt zwischen 2 bis 3 für die Alkohole, Urethane, Ketone, Chloralhydrat, Anilin und Pyridin. Dieses Verhältnis ist niedriger als 2 für Chloroform, Phenol und o-Kresol. In bezug auf Chloroform muß bemerkt werden, daß die angewandten Konzentrationen höher waren als die maximalen Lösungen.

Wollen wir nun unsere Resultate mit denen Vernons vergleichen, so müssen wir in Betracht ziehen, daß Vernon die Anaesthetica auf das Nierengewebe bei Zimmertemperatur einwirken ließ. Die von Vernon erzielten Resultate müssen also mit den in unserer Tabelle II zusammengestellten verglichen werden. Man sieht, daß fast für alle Anaesthetica die Übereinstimmung eine zufriedenstellende ist. Die Abweichungen zwischen unseren Resultaten und den von Vernon verzeichneten übersteigen kaum 25 %. Eine merkliche Abweichung hingegen bemerkt man für Chloroform. In den Versuchen von Vernon setzt Chloroform die Tätigkeit der Indophenoloxydase (oder Phenylendiaminoxydon) bei einer 0,0145 m-Konzentration herab und vernichtet dieselbe bei einer 0,075 m-Konzentration. Diese Werte sind bedeutend niedriger als die unsrigen.

Wenn man die in der Tabelle III angeführten Werte (Zerstörung des Oxydons bei 40°) mit denen der Tabelle I (wo

die Anaesthetica auch durch ihre Gegenwart wirken) vergleicht so kann man folgendes bemerken. Eine große Anzahl von Anaesthetica, die bei 40° 15 Minuten lang mit dem Muskelgewebe in Berührung gelassen und hierauf durch sorgfältiges Auswaschen entfernt wurden, bewirken ungefähr die gleiche definitive Abschwächung des Oxydons, wie wenn sie bei der Oxydation der Bernsteinsäure zugegen sind. Ein solches Verhalten zeigen der Propyl-, Butyl- und Amylalkohol, das Aceton, das Methyläthyl- und Methylpropylketon, das Propylurethan, Chloralhydrat, Anilin, Phenol und o-Kresol. Die anderen Anaesthetica wirken ein wenig stärker, wenn sie bei der Oxydation der Bernsteinsäure zugegen sind, als wenn sie nach vorherigem Kontakt mit dem Muskelgewebe durch Auswaschen entfernt worden sind. Dieser Unterschied macht sich namentlich bei den Konzentrationen, die nur eine Verminderung des Oxydationsvermögens um 15 bis 20% bewirken, geltend. Ein solches Verhalten trifft man beim Methyl- und Äthylalkohol, Chloroform, Methylurethan, Antipyrin und Pyridin an. Bei diesen Substanzen bemerkt man auf diese Weise, daß die durch dieselben hervorgerufene Abschwächung eine gewisse Umkehrbarkeit zeigt. Die Reversibilität ist namentlich ausgesprochen, wenn die Konzentration des Anaestheticums nicht genügend stark ist, um das Oxydon völlig zu vernichten. Hauptsächlich ist dies der Fall für Äthylurethan und noch mehr für Antipyrin. Man kann die Beobachtung machen, daß für die Alkohole die Reversibilität in dem Maße abnimmt, wie das Molekulargewicht derselben zunimmt.

VII. Verhältnis zwischen den Oxydon zerstörenden Konzentrationen der Anaesthetica, ihren narkotischen Konzentrationen und ihren Teilungskoeffizienten.

Vernon[1]) hat bereits für eine gewisse Anzahl von Narkotica festgestellt, welches Verhältnis zwischen der zur Zerstörung von 50% Oxydase nötigen Konzentration und der Narkose bewirkenden Konzentration existiert. Für letztere Konzentrationen benutzt Vernon die von Overton[2]) an den Kaulquappen erzielten Werte.

In der Tabelle IV stellen wir das Verhältnis fest, welches zwischen den das Succinicooxydon bei 40° und bei 15° völlig vernichtenden Kon-

[1]) Vernon, diese Zeitschr. 47, 374, 1912.

[2]) Overton, Studien über die Narkose. 1901.

zentrationen und den nach Overton an Kaulquappen festgestellten narkotischen Konzentrationen besteht. Wir geben hier zugleich auch die von Vernon ermittelten Verhältnisse an, und zwar für die Konzentrationen der Anaesthetica, die die Zerstörung von 50 % des Oxydons der Niere bewirken. Außerdem geben wir hier auch die Werte der Teilungskoeffizienten zwischen Öl und Wasser für die verschiedenen Anaesthetica wieder. Bekanntlich zeigt der Teilungskoeffizient die relative Verteilung einer Substanz zwischen diesen beiden Flüssigkeiten an.

Tabelle IV.

Verhältnis zwischen den narkotischen Konzentrationen und den Konzentrationen, die die Vernichtung des Succinicoxydons (bei 15 und bei 40°) und des Phenylendiaminoxydons (Vernons Versuche) bewirken. Werte der Teilungskoeffizienten der verschiedenen Anaesthetica zwischen Öl und Wasser.

Anaesthetica	Narkotische Konzentration	Verhältnisse für d. Succinicoxydonzerstörung b. 40°	Verhältnisse für d. Succinicoxydonzerstörung b. 15°	Von Vernon gefundene Verhältnisse	Teilungskoeffizient
Methylalkohol . .	m-0,62	12	18	22	sehr klein
Äthylalkohol . . .	0,31	11	20	20	1/30
Propylalkohol . .	0,11	10	18	19	1/8
Isobutylalkohol . .	0,045	10	23	17	6
Isoamylalkohol . .	0,023	8	18	—	sehr hoch
Paraldehyd . . .	0,025	32	—	32	3
Äther	0,043	18	—	14	4,5
Chloroform	0,0014	121	157	50	33
Aceton	0,26	10	22	20	1/6
Methyläthylketon .	0,09	10	24	22	hoch
Methylpropylketon	0,019	16	40	33	"
Äthylurethan . . .	0,037	27	51	42	1/7
Chloral	0,027	8	23	—	1/5
Pyridin	0,016	32	63	—	2/5
Anilin	0,013	16	27	—	sehr hoch
Phenol	0,0053	35	24	17	hoch
o-Kresol	0,0012	41	58	35	sehr hoch

Aus der Betrachtung der in Tabelle IV angeführten Zahlen ergibt sich, daß für die weitaus größte Zahl der Anaesthetica zwischen den von Vernon gefundenen Werten und den unsrigen eine sehr große Übereinstimmung existiert, wenn man die Versuche betreffend die Zerstörung des Oxydons bei 15° ausführt. Dies war zu erwarten, da, wie wir bereits früher gesagt haben, die völlige Zerstörung des Oxydons in unseren bei 15° ausgeführten Versuchen durch annähernd dieselben Konzentrationen der Anaesthetica erzielt wurde, wie die Zerstörung von 50 %

des Oxydons in den Versuchen von Vernon, die bei Zimmertemperatur (18°?) ausgeführt wurden. Diese Übereinstimmung fehlt jedoch für das o-Kresol und namentlich für das Chloroform.

Die Verhältnisse zwischen den zur Zerstörung des Oxydons des Muskels bei 15° nötigen Konzentrationen und den zur Narkose notwendigen sind für die verschiedenen Anaesthetica etwas verschieden. Für die Alkohole, die Ketone (mit Ausnahme des Methylpropylketons), das Chloralhydrat, Anilin, Phenol ist dieses Verhältnis annähernd dasselbe und schwankt zwischen 18 und 27. Für das Methylpropylketon, Äthylurethan, o-Kresol und Pyridin schwankt dieses Verhältnis zwischen 40 und 63. Wenn man das Chloroform beiseite läßt, schwankt also dieses Verhältnis zwischen 18 und 63, also in einem Verhältnis von 1 : 3,5.

Untersucht man nun diese Verhältnisse in bezug auf die Zerstörung des Oxydons bei 40°, so sieht man, daß für die Mehrzahl der Anaesthetica dieses Verhältnis zwischen 8 und 32 variiert. Nur für das o-Kresol und hauptsächlich für das Chloroform übersteigt es den Wert 32.

Für das Chloroform ist das Verhältnis zwischen der das Oxydon des Muskels vernichtenden Konzentration und der zur Narkose erforderlichen ungemein hoch. Es ließe sich denken, daß dies durch den Umstand bedingt sei, daß die Kaulquappen, an denen Overton seine Versuche ausgeführt hat, besonders empfindlich gegen Chloroform seien. Aber das ist nicht der Fall. So berichtet Nicloux[1]), daß beim Hunde während der Narkose die Konzentration des Chloroforms im Blutplasma ungefähr 0,0917 m beträgt. Diese Zahl ist analog dem von Overton gefundenen Werte. Es scheint mithin eine Eigentümlichkeit des Chloroforms zu sein, daß im Vergleich zu den anderen Anaesthetica sein narkotisches Vermögen ungleich höher ist, als seine Fähigkeit, das Oxydon zu vernichten oder die Nucleoproteide zu fällen. Es muß auch bemerkt werden, daß der Teilungskoeffizient des Chloroforms im Vergleich zu seinem narkotischen Vermögen nicht sehr hoch ist. So z. B.

[1]) Nicloux, Teneur respective en chloroforme des globules et du plasma sanguins pendant l'anesthésie. Soc. de Biol. 58, 248, 1906.

ist der Teilungskoeffizient des Chloroforms nur 7 bis 8 mal höher als der des Äthers, während die narkotische Fähigkeit des Chloroforms 30 mal höher ist als die des Äthers.

Kurz zusammengefaßt, variiert das Verhältnis zwischen den das Succinicoxydon zerstörenden und den narkotischen Konzentrationen der verschiedenen Anaesthetica zwischen 1 und 4. Dieselben Verhältnisse existieren natürlich auch zwischen den nucleoproteidfällenden Konzentrationen und den narkotischen Konzentrationen der Anaesthetica, da, wie wir gesehen haben, die Konzentrationen, die die völlige Fällung der Nucleoproteide bewirken, annähernd dieselben sind, wie die das Oxydon zerstörenden.

Die Verhältnisse zwischen den Teilungskoeffizienten und den narkotischen Konzentrationen weisen viel größere Abweichungen auf. Es genügt zu bemerken, daß, während die narkotische Konzentration des Chloralhydrats zehnmal kleiner ist als die des Acetons, der Teilungskoeffizient dieser beiden Substanzen annähernd derselbe ist. Die narkotische Konzentration des Butylalkohols ist dreimal niedriger als die des Propylalkohols, während der Teilungskoeffizient des Propylalkohols 48 mal niedriger ist als der des Butylalkohols. Man könnte noch zahlreiche andere Beispiele anführen. Meyer[1]) hatte bereits die Aufmerksamkeit auf die Abweichungen zwischen narkotischer Wirkung und Teilungskoeffizient gelenkt und dies durch den Umstand erklärt, daß die Löslichkeit der Narkotica in Öl eine untergeordnete Bedeutung habe.

Man kann also sagen, daß für die Anaesthetica ein viel engerer Parallelismus zwischen den Konzentrationen, die eine Zerstörung des Oxydons hervorrufen (oder die Fällung der Nucleoproteide bewirken) und den narkotischen Konzentrationen besteht, als zwischen den letzteren und den Teilungskoeffizienten. In bezug auf die Alkohole ist der Parallelismus zwischen den narkotischen Konzentrationen und den die Fällung der Nucleoproteide bewirkenden ein vollständiger, was für die Teilungskoeffizienten nicht zutrifft.

---

[1]) Meyer, Zur Theorie der Alkoholnarkose. Welche Eigenschaft der Anaesthetica bedingt ihre narkotische Wirkung? Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol. 42, 109, 1899.

Meyer[1]) hatte den Einfluß der Temperatur auf den Teilungskoeffizienten der Anaesthetica sowie auf die narkotische Wirksamkeit derselben studiert. Er bemerkte unter anderem, daß für den Äthylalkohol, das Aceton und hauptsächlich das Chloralhydrat der Teilungskoeffizient sowie die narkotische Wirkung bei 36° viel höher sind als bei 3°. Dieses Resultat wurde von Meyer als eine Stütze für seine Theorie der Narkose betrachtet. Nun haben wir gesehen, daß für diese Substanzen, wie übrigens für die anderen Anaesthetica, die wir untersucht haben, das Fällungsvermögen gegenüber den Nucleoproteiden und mithin auch die zerstörende Wirkung gegenüber dem Oxydon bei 40° viel stärker sind als bei 15°.

IX. Verhältnis zwischen den das Oxydon zerstörenden Konzentrationen und den toxischen, hämolytischen sowie die Oberflächenspannung verändernden Konzentrationen der verschiedenen Anaesthetica.

Es wäre von Interesse, feststellen zu können, welches Verhältnis zwischen den zur Zerstörung des Succinicoxydons nötigen Konzentrationen und den toxischen Konzentrationen der verschiedenen Anaesthetica besteht. Aber die Untersuchungen über die Giftwirkung dieser Substanzen bei den höheren Tieren sind nicht in systematischer Weise unter gleichen Versuchsbedingungen ausgeführt worden. Infolgedessen sind die Resultate nicht miteinander vergleichbar. Eine Ausnahme hiervon bilden die Untersuchungen von Joffroy und Serveaux[2]) in bezug auf die einwertigen primären Alkohole und das Aceton. In diesen Versuchen sind die Anaesthetica in die Venen des Kaninchens eingespritzt worden, dessen Blut vorher durch Injektion von Blutegelextrakt ungerinnbar gemacht worden war.

Das hämolytische Vermögen der Anaesthetica ist von Fühner und Neubauer[3]) derselben Ursache zugeschrieben worden, die nach der Theorie von Meyer-Overton die Narkose hervorruft, d. h. einer Zu-

[1]) Meyer, Zur Theorie der Alkoholnarkose. Der Einfluß wechselnder Temperatur auf Wirkungsstärke und Teilungskoeffizient der Narkotica. Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol. 46, 338, 1901.

[2]) Joffroy et Serveaux, Nouveau procédé de mensuration de la toxicité des liquides par la méthode des injections intraveineuses. Application à la détermination de la toxicité des alcools. Arch. de méd. experim. 7, 569, 1895.

[3]) Fühner und Neubauer, Hämolyse durch Substanzen homologer Reihen. Arch. f. exper. Pathol. u. Pharmakol. 56, 333, 1907.

standsänderung der Lipoide. Hermann[1]) hatte bereits die Beobachtung gemacht, daß alle aliphatischen Narkotica die roten Blutkörperchen lösen, und hatte daraus den Schluß gezogen, daß es die Lecithine, Cholesterine usw. sind, die den Angriffspunkt für diese Substanzen bilden. Vandevelde[2]) hat zahlreiche Untersuchungen betreffend das hämolytische Vermögen der verschiedenen organischen Verbindungen gemacht aber seine etwas komplizierte Methode läßt die Resultate etwas unsicher erscheinen in bezug auf ihre Vergleichbarkeit. Fühner und Neubauer bemerken, daß es für jeden Alkohol eine ganz bestimmte Grenzkonzentration gibt, unterhalb welcher die Hämolyse nicht stattfindet. Bei dem Vergleiche der Wirkungsfähigkeit der verschiedenen Alkohole finden sie, daß jeder höhere Alkohol dreimal stärker wirkt als der nächststehende niedrigere Alkohol, doch ist der Äthylalkohol nur 2,3 mal so stark wie der Methylalkohol. Wirgin[3]) findet, daß der tertiäre Amylalkohol viermal weniger giftig ist als der normale Amylalkohol. Fühner hatte ebenso regelmäßige Resultate für die Entwicklungshemmung der Seeigeleier beobachtet.

Traube[4]) hat gegen die Theorie von Overton eine ganze Reihe von Einwänden erhoben. Er bringt die Schnelligkeit des Eindringens der verschiedenen Substanzen in die Zelle, sowie ihre narkotische Wirkungsfähigkeit in Zusammenhang mit ihrer Capillaraktivität, d. h. mit ihrer Fähigkeit, die Capillaritätskonstante des Wassers herabzusetzen. Traube findet, daß zwischen der durch ein Anaestheticum bewirkten Verminderung der Oberflächenspannung, dem Teilungskoeffizienten und der narkotischen Wirkung ein enger Zusammenhang besteht, obwohl die Proportionalität keine absolute ist. Für die Narkotica, die zugleich giftig sind (Allylalkohol, Anilin, Pyridin, Phenol usw.), ist die Übereinstimmung zwischen der Verminderung der Oberflächenspannung und der narkotischen Wirkungsfähigkeit keine so vollständige.

In der Tabelle V stellen wir die Konzentrationswerte der verschiedenen Narkotica zusammen, und zwar die toxischen Konzentrationen nach Joffroy und Serveaux, die hämolytischen nach Fühner und Neubauer und die Capillaritätskonstanten nach Traube für die Lösungen enthaltend $^1/_4$ Mol pro Liter. Wir fügen außerdem die zur völligen Zerstörung des Succinicoxydons erforderlichen Konzentrationen hinzu. Um die von Joffroy und Serveaux angegebenen Werte in Grammolekeln umzurechnen, haben wir durchschnittlich 1 kg Kaninchen als

[1]) Hermann, Über die Wirkungsweise einer Gruppe von Giften. Arch. f. Anat. u. Physiol. 20, 117, 1906.

[2]) Vandevelde, Recherches sur les hémolysines chimiques. Bull. Assoc. chim. Belge 19, 288, 1905, u. diese Zeitschr. 1, 1, 1906.

[3]) Wirgin, Vergleichende Untersuchung über die keimtötenden und entwicklungshemmenden Wirkungen von Alkoholen der Methyl-, Äthyl-, Propyl-, Butyl- und Amylreihen. Zeitschr. f. Hygiene 46, 149, 1904.

[4]) Traube, Theorie der Osmose und Narkose. Arch. f. d. ges. Physiol. 105, 541, 1904.

gleichwertig mit 1 l Flüssigkeit betrachtet, was natürlich ganz willkürlich ist. Mithin haben die Zahlen, die sich auf die Giftigkeit beziehen, nur einen relativen Wert.

Tabelle V.

Vergleich zwischen der Giftigkeit, dem hämolytischen Vermögen, der Fähigkeit, die Oberflächenspannung des Wassers zu erniedrigen und das Succinicooxydon zu zerstören, der verschiedenen Anaesthetica.

Anaesthetica	Giftigkeit pro 1 kg Kaninchen Mol	Hämolytisches Vermögen bei 19° Mol	Capillaritätskonstante $\gamma_w - \gamma$	Succinicooxydonzerstör. Wirkung bei 40° Mol
Methylalkohol . .	0,7890	7,340	0,25	7,54
Äthylalkohol . .	0,2540	3,240	0,58	3,57
n-Propylalkohol .	0,0566	1,080	1,41	1,16
n-Butylalkohol .	—	0,318	—	—
Isobutylalkohol .	0,0196	—	2,81	0,44
n-Amylalkohol .	—	0,091	—	—
Isoamylalkohol .	0,0072	—	4,25	0,19
Allylalkohol . . .	—	—	0,86	1,80
Äthylurethan . .	—	1,04	—	1,03
Propylurethan .	—	0,35	—	0,47
Aceton	0,0900	—	0,82	2,38
Äther	—	—	2,00	0,77
Paraldehyd . . .	—	—	2,19	0,80
Pyridin	—	—	1,14	0,51
Anilin	—	—	2,00	0,21
Phenol	—	—	2,02	0,08

Die in der Tabelle V zusammengestellten Werte zeigen, daß zwischen den verschiedenen Eigenschaften und Wirkungen der Anaesthetica ein gewisser Parallelismus nachweisbar ist, aber daß dieser Parallelismus durchaus kein vollkommener ist.

Die befriedigendste Übereinstimmung besteht zwischen dem hämolytischen Vermögen einerseits und der oxydonzerstörenden Wirkung (oder Fällung der Nucleoproteide) andrerseits. Die Capillaraktivität der echten Anaesthetica zeigt eine gute Übereinstimmung mit dem oxydonzerstörenden Vermögen derselben, aber für die anderen Anaesthetica, die gleichzeitig andere Giftwirkungen ausüben, besteht dieser Parallelismus nicht. Bei einigen Substanzen, wie Pyridin, Anilin und namentlich Phenol, ist die oxydonzerstörende Fähigkeit viel stärker als die Capillaraktivität im Vergleich zu den anderen Anaesthetica.

Fühner und Neubauer[1]) bemerken, daß die Alkohole

[1]) l. c.

mit verzweigter Kette weniger giftig sind, ein schwächeres narkotisches Vermögen und einen kleineren Teilungskoeffizienten (Öl : Wasser) besitzen als die normalen Alkohole. Die Koeffizienten der Herabsetzung der Oberflächenspannung sind hingegen für die normalen Alkohole dieselben wie für die Alkohole mit verzweigter Kette.

Experimentelle Ergebnisse.

Man könnte noch andere Beziehungen zwischen der fällenden Wirkung der Anaesthetica und der Wirkung, die sie auf den Organismus ausüben, feststellen. So z. B. die Wirkung auf das Herz (Vernon), die bakterizide Wirkung (Wirgin, Kisch u. a.), die exosmotische Wirkung (Czapek), die Hemmung der Protoplasmaströmung (Nothmann-Zuckerkandl) usw.[1]) Die Feststellung dieser Beziehung würde die Schlußfolgerungen, zu denen wir gelangt sind, nur bestätigen.

Die Betrachtungen allgemeiner Natur, die man aus den in dieser Arbeit mitgeteilten Untersuchungen ableiten kann, werden wir in der folgenden Mitteilung über den Einfluß der Aldehyde auf die Oxydone erörtern. Hier sollen bloß die experimentellen Ergebnisse zusammengefaßt werden.

1. Unterhalb einer gewissen Konzentration bewirken die Anaesthetica keine Verminderung der Bernsteinsäureoxydation durch die Gewebe und bewirken keine Abschwächung des Succinicoxydons (diese Tatsache ist bereits von Vernon für das Phenylendiaminoxydon [resp. Indophenoloxydase] beobachtet worden).

2. Die zur völligen Vernichtung des Succinicoxydons nötigen Konzentrationen der Anaesthetica sind nicht sehr weit entfernt von den Konzentrationen, die dasselbe anzugreifen beginnen (eine Tatsache, die bereits von Vernon für das Phenylendiaminoxydon verzeichnet wurde). Für das Antipyrin ist der Unterschied jedoch recht bedeutend.

3. Alle Anaesthetica der aliphatischen und aromatischen Reihe besitzen die Fähigkeit, die in den wässerigen Auszügen der Gewebe enthaltenen Nucleoproteide zu fällen. Diese Fäl-

[1]) Fühner und Neubauer haben den Parallelismus zwischen den physikalischen und den biologischen Eigenschaften der homologen Reihen verschiedener Substanzen hervorgehoben.

lung ist nur dann eine merkliche, wenn die Konzentration des Anaestheticums einen bestimmten Wert erreicht (kritische Konzentration). Die vollständige Fällung wird durch eine höhere Konzentration erzielt (Grenzkonzentration). Die kritische Konzentration sowie die Grenzkonzentration variieren mit der Temperatur.

4. Es existiert eine fast völlige Übereinstimmung zwischen dem Vermögen der Anaesthetica, die Nucleproteide zu fällen, und ihrer Fähigkeit, das Succinicoxydon zu vernichten. Diese Übereinstimmung ist für Phenol und o-Kresol keine vollständige.

5. An dem mit dem Anaestheticum in Kontakt gelassenen und hierauf durch Auswaschen von demselben befreiten Muskel beobachtet man folgendes: Die Wirkungsfähigkeit des Succinicoxydons zeigt eine merkliche Abschwächung, wenn das Anaestheticum die kritische Konzentration erreicht; die völlige Vernichtung des Succinicoxydons wird erzielt, wenn das Anaestheticum die Grenzkonzentration erreicht. Diese Übereinstimmung beobachtet man sowohl bei 15° als auch bei 40°.

6. Wenn der vorherige Kontakt zwischen dem Muskelgewebe und dem Anaestheticum bei 40° stattfindet, wird die völlige Vernichtung durch bedeutend niedrigere Konzentrationen des Anaestheticums bewirkt als bei 15°.

7. Wenn ein gegebenes Anaestheticum bei der Oxydation der Bernsteinsäure durch die Gewebe zugegen ist, so erzielt man völlige Hemmung der Oxydation, sobald die Konzentration des Anaestheticums ungefähr genügend ist, um die Nucleoproteide völlig zu fällen.

8. Der Einfluß der Anaesthetica auf die Wirkungsfähigkeit des Succinicoxydons ist nicht viel stärker, wenn die Anaesthetica bei der Bernsteinsäureoxydation zugegen sind, als wenn die Anaesthetica nach vorherigem Kontakte mit den Geweben durch Auswaschen aus denselben entfernt worden sind. Die Zerstörung des Oxydons ist also nicht reversibel oder weist wenigstens nur eine schwache Reversibilität auf.

9. Es existiert ein ziemlich enges Verhältnis zwischen den Konzentrationen der Anaesthetica, die die Oxydone vernichten, und den Konzentrationen, die die Narkose bewirken (eine von Vernon bereits für das Phenylendiaminoxydon festgestellte Tatsache). Dieses Verhältnis ist viel enger als das Verhältnis

zwischen den narkotischen Konzentrationen der Anaesthetica und ihrem Teilungskoeffizienten Öl und Wasser, namentlich wenn man die Körper einer homologen Reihe betrachtet (z. B. die Alkohole).

10. Für die verschiedenen Anaesthetica existiert auch ein ziemlich enger Parallelismus zwischen ihrem hämolytischen Vermögen, ihrer Giftwirkung, ihrer Capillaritätsaktivität und ihrem Vermögen, die Oxydone zu zerstören.

11. Es liegt kein Grund zur Annahme vor, daß die Anaesthetica die Oxydone durch Einwirkung auf die Lipoide zerstören. Diese Zerstörung dürfte vielmehr durch eine Einwirkung auf die unlöslichen Proteinkörper der Gewebe bedingt sein.

Einfluß der Aldehyde auf die Oxydone.

Von

F. Battelli und L. Stern.

(Aus dem Physiologischen Institut der Universität Genf.)

(Eingegangen am 19. Mai 1913.)

I.

Die Aldehyde verhalten sich den Nucleoproteiden der Gewebe gegenüber anders als die von uns in der vorangehenden Arbeit untersuchten Narkotica. In Konzentrationen, die hinreichend sind, um die Oxydone zu vernichten, bewirken die Aldehyde keine Fällung der Proteinsubstanzen. Wir haben in speziellen, daraufhin gerichteten Versuchen zu bestimmen gesucht, ob es möglich sei, ein bestimmtes Verhältnis zwischen der zerstörenden Fähigkeit der Aldehyde gegenüber den Oxydonen und den durch sie hervorgerufenen Veränderungen in der Zusammensetzung der Proteinsubstanzen aufzustellen. Wir werden diese Veränderungen in den entsprechenden Kapiteln behandeln.

Nach Overton[1]) dürfen das Formaldehyd, sowie der Acetaldehyd nicht als wahre Anaesthetica betrachtet werden, weil ihre Wirkung eine progressive ist. Diese progressive Wirkung tritt bei den höheren Aldehyden weniger hervor. Der Paraldehyd, der allerdings kein echter Aldehyd ist, weist diese Komplikation nicht oder nur wenig auf.

Wir hatten bereits früher Untersuchungen über den Einfluß der Aldehyde auf die Oxydation der Bernsteinsäure durch die Tiergewebe angestellt und hatten über die Versuchsergebnisse nur kurz berichtet[2]). Vernon[3]) findet, daß Paraldehyd, der ein echtes

---

[1]) Overton, Studien über die Narkose. Jena 1901. S. 106.

[2]) Battelli und Stern, Die Oxydation der Bernsteinsäure durch Tiergewebe. Diese Zeitschr. 30, 172, 1910.

[3]) Vernon, diese Zeitschr. 77, 374, 1912.

Narkoticum ist, sich auch wie die anderen Narkotica verhält, weil der Wirkungsumfang derselben, d. h. der Unterschied zwischen der Konzentration, die das Oxydon anzugreifen anfängt, und derjenigen, bei der das Oxydon vernichtet wird, kein großer ist. Dieser Wirkungsumfang ist jedoch für den Acetaldehyd recht groß, noch größer für den Propylaldehyd und sehr bedeutend für den Formaldehyd. Vernon findet in dieser Tatsache eine große Stütze für die Annahme, daß die Oxydasenlähmung eines echten Narkoticums von seinem Einfluß auf gewisse wesentliche Lipoidmembranen abhängt.

Warburg[1]) hat den Einfluß der homologen Aldehyde auf die Intensität des respiratorischen Gaswechsels der jungen Erythrocyten des Gänseblutes untersucht. Er findet, daß die durch die Aldehyde verursachte Hemmung der Oxydationsvorgänge reversibel ist mit Ausnahme des Propylaldehyds, dessen Wirkung zum Teil irreversibel ist.

Wir haben den Einfluß des Formaldehyds, des Acetaldehyds, des Propylaldehyds und des Salicylaldehyds untersucht. Wir wollen zuerst die Resultate mitteilen, die wir bei der direkten Einwirkung dieser Aldehyde auf die Bernsteinsäureoxydation erhalten haben, sowie die Fähigkeit derselben, das Succinicoxydon zu vernichten. Die Versuchsanordnung ist dieselbe, wie die in der vorhergehenden Arbeit beschriebene.

II. Direkter Einfluß der Aldehyde auf die Intensität der Bernsteinsäureoxydation durch die Gewebe.

In dieser Reihe von Versuchen haben wir, wie wir es bereits für die Anaesthetica getan, den Einfluß untersucht, den die verschiedenen Aldehyde auf die Intensität der Bernsteinsäureoxydation ausüben. Die Wirkung des Salicylaldehyds wurde sowohl am Rindermuskel als auch an der Hammelleber geprüft. Aber für den Formaldehyd und den Acetaldehyd haben wir bloß das Muskelgewebe benutzt, weil die Leber in dieser Beziehung nicht unwichtige Fehlerquellen aufweist. In der Tat enthält die Leber eine bedeutende Menge Aldehydase und bewirkt hierdurch eine recht energische Spaltung der beiden Aldehyde in entsprechende Alkohole und Säuren. Außerdem kommt noch die Alkoholoxydase in Betracht, die die beiden Aldehyde, namentlich den Acetaldehyd, zur entsprechenden Säure oxydiert. Die Folge davon ist eine sehr starke

---

[1]) Warburg: Über die Beeinflussung der Sauerstoffatmung II. Beziehung zur Konstitution. Zeitschr. f. physiol. Chem. 71, 479, 1911.

Säurebildung, die auf die Oxydation der Bernsteinsäure stark hemmend wirken kann. Man kann also nicht wissen, ob die Verminderung der Oxydation auf den direkten Einfluß der Aldehyde als solcher oder aber auf das Auftreten der sauren Reaktion des Mediums zurückzuführen ist.

Die Resultate dieser Untersuchungen sind in der folgenden Tabelle I wiedergegeben. Die angeführten Zahlen stellen die Durchschnittswerte von mindestens fünf Versuchen dar.

Tabelle I.

Einfluß der Aldehyde auf die Intensität der Bernsteinsäureoxydation. In allen diesen Versuchen betrug die Dauer des Schüttelns 30 Minuten und die Temperatur des Thermostaten 40°. Die Flaschen waren mit reinem Sauerstoff gefüllt.

Aldehyde	Muskel		Leber	
	Verringerung um 15 bis 20 %	Vernichtung	Verringerung um 15 bis 20 %	Vernichtung
Formaldehyd .	m-0,0053	m-0,056	—	—
Acetaldehyd . .	0,2200	0,510	—	—
Propylaldehyd .	0,0970	0,460	m-0,058	m-0,310
Salicylaldehyd .	0,0160	0,043	0,008	0,028

Die Resultate dieser Tabelle zeigen vor allem, daß bei gleicher Konzentration Salicylaldehyd die Oxydation der Bernsteinsäure durch die Leber stärker herabsetzt als die durch den Muskel bewirkte.

Das Verhältnis zwischen der Konzentration, die zur Vernichtung der Oxydation erforderlich ist und derjenigen, die nötig ist, um eine Verminderung der Oxydationsintensität um 15 bis 20 % zu bewirken, überschreitet kaum den Wert 3 für den Acetaldehyd und den Salicylaldehyd. Dieses Verhältnis ist für den Propylaldehyd 5 und ist sehr hoch für den Formaldehyd wo es den Wert 10 übersteigt.

III. Zerstörung des Succinicoxydons durch die Aldehyde.

In den hierhergehörigen Versuchen haben wir das gleiche Verfahren benutzt, wie das in der vorhergehenden Arbeit über die Anaesthetica beschriebene. Das Reaktionsgemisch (zerriebener Muskel + Aldehydlösung) wurde 15 Minuten lang bei 15° oder bei 40° energisch geschüttelt und darauf wiederholt gewaschen, mit der Lösung von bernsteinsaurem Natrium versetzt und in einer Sauerstoffatmosphäre wie gewöhnlich geschüttelt.

Die Resultate dieser Versuche sind in der folgenden Tabelle II zusammengestellt. Die hier angeführten Zahlen sind die Durchschnittswerte von mindestens fünf Versuchen.

Tabelle II.

Konzentrationen der verschiedenen Aldehyde, die eine Verminderung oder eine völlige Vernichtung des Succinicoxydons des Rindermuskels nach vorherigem Schütteln während 15 Minuten bei 15° oder bei 40° bewirkt haben.

Aldehyde	Vorherige Einwirkung			
	bei 15°		bei 40°	
	Verringerung des Oxydons um 15 bis 20 %	Vernichtung des Oxydons	Verringerung des Oxydons um 15 bis 20 %	Vernichtung des Oxydons
Formaldehyd .	m-0,017	m-0,32	m-0,006	m-0,060
Acetaldehyd . .	0,580	0,51	0,160	0,460
Propylaldehyd .	—	—	0,088	0,370
Salicylaldehyd .	0,040	0,08[1])	0,026	0,065[1])

Aus den in der Tabelle II zusammengestellten Resultaten ersieht man, daß, ebenso wie für die Anaesthetica im allgemeinen, die Konzentrationen, die das Oxydon vernichten, bei 15° viel höher sind als bei 40°. Das Verhältnis zwischen der bei 15° das Oxydon zerstörenden Konzentration und der bei 40° das Oxydon vernichtenden schwankt zwischen 3 und 5 für den Formaldehyd und den Acetaldehyd. Für den Salicylaldehyd ist dieses Verhältnis niedriger als 2; aber es muß bemerkt werden, daß die nötigen Konzentrationen des Salicylaldehyds an der Grenze oder noch höher als die maximalen Lösungen desselben sind.

Vergleicht man die in der Tabelle II für die Temperatur von 40° angegebenen Werte mit denen der Tabelle I, so muß man den Schluß ziehen, daß die Aldehyde nicht nur durch ihre Gegenwart auf die Oxydation wirken, sondern daß sie eine Abschwächung oder eine definitive Zerstörung des Oxydons bewirken. In der Tat sieht man, daß die Abschwächung des Oxydons ungefähr durch die gleichen Aldehydkonzentrationen bewirkt wird, gleichgültig ob die Aldehyde in dem Reaktionsgemisch zugegen sind oder nach einem 15 Minuten langen Kontakte bei 40° durch Auswaschen entfernt worden sind. In dieser Beziehung verhalten sich die Aldehyde ganz wie die Anaesthetica.

Wir haben bereits erwähnt, daß nach Warburg[2]) die

[1]) Bei dieser Konzentration ist Salicylaldehyd nicht vollständig gelöst.

[2]) loc. cit.

durch die Aldehyde bewirkte Atmungshemmung der Erythrocyten eine reversible ist. Unsere Untersuchungen über die Oxydone lassen sich mit den Untersuchungen Warburgs über die eigentliche Atmung der Erythrocyten nicht gut vergleichen.

Vergleichen wir nun die für die Temperatur von 15° angegebenen Werte der Tabelle II mit den von Vernon erzielten, so bemerken wir, daß dieselben für den Acetaldehyd und den Propylaldehyd, ohne ganz übereinzustimmen, doch keine großen Abweichungen aufweisen. Anders hingegen für den Formaldehyd, für den unsere Werte von den von Vernon angegebenen sehr stark abweichen. So findet Vernon, daß die Wirkung des Phenylendiaminoxydons bei einer 0,003 m-Konzentration des Formaldehyds abgeschwächt und bei einer 4 m-Konzentration desselben vernichtet wird. Diese Werte sind sehr weit entfernt von den von uns in der Tabelle II wiedergegebenen.

IV. Zwischen dem Zerstörungsvermögen der Aldehyde und ihrer Fällungskraft besteht keine Übereinstimmung.

Bei den von uns daraufhin untersuchten Aldehyden (Formaldehyd, Acetaldehyd und Salicylaldehyd) besteht keine Übereinstimmung zwischen ihrem Vermögen, das Succinicoxydon zu vernichten und ihrer fällenden Wirkung auf Proteine. Wir haben gesehen, daß das Oxydon durch relativ schwache Aldehydkonzentrationen vernichtet wird. Hingegen findet unter denselben Versuchsbedingungen keine Fällung der Nucleoproteide oder anderer Proteinkörper des Leberauszugs selbst durch relativ hohe Aldehydkonzentrationen statt. So bewirkt Formaldehyd in einer Konzentration von 5:100, Acetaldehyd in einer Konzentration von 10:100 oder Salicylaldehyd in gesättigter Lösung keine merkliche Niederschlagsbildung in dem wässerigen Auszuge der Leber nach einem Kontakte von 30 Minuten und bei einer Temperatur von 40°.

Bei der Anwendung von Formaldehyd oder Acetaldehyd muß man von Zeit zu Zeit (ungefähr alle 5 Minuten) das Reaktionsgemisch neutralisieren, wenn man die Bildung eines Niederschlags verhüten will. Bekanntlich erfolgt unter dem Einflusse der Aldehydase eine rapide Spaltung des Aldehyds in Alkohol und Säure, was die Fällung der Nucleoproteide zur

Folge hat[1]). Für den Salicylaldehyd ist dieser Spaltungsvorgang weniger ausgesprochen.

Die Aldehyde verhalten sich also nicht wie die anderen Anaesthetica, denn wie wir es in der vorangehenden Arbeit gezeigt haben, besteht für dieselben zwischen ihrer Fällungswirkung den Nucleoproteiden gegenüber und der zerstörenden Wirkung gegenüber dem Succinicoxydon oder dem Phenylendiaminoxydon ein enges Verhältnis.

V. Verfahren, die durch die Aldehyde bewirkten Veränderungen der in dem wässerigen Leberauszuge enthaltenen Proteinkörper quantitativ zu bestimmen.

Aus den Arbeiten verschiedener Forscher (Blum, Benedicenti, Bach, Schwartz usw.) ist es bekannt, daß die Aldehyde mit den Proteinsubstanzen Verbindungen eingehen. Die Bibliographie ist in der Arbeit von Schwarz[2]) enthalten, auf die wir hiermit verweisen. In diesen verschiedenen Arbeiten werden die Änderungen beschrieben, die die verschiedenen Proteinsubstanzen unter dem Einflusse der Aldehyde aufweisen. Benedicenti[3]) hat die Mengen Formaldehyd gemessen, die von den verschiedenen Proteinkörpern nach kürzerem oder längerem Kontakt gebunden werden. Dieses Verfahren läßt sich nur schwer für die in den Geweben enthaltenen Proteinkörper verwenden, weil man zur Bestimmung der zurückbleibenden freien Aldehyde die Gewebeauszüge einer Destillation unterwerfen muß. Unter dem Einfluß der Hitze kann aber eine teilweise Zersetzung der Verbindungen eintreten und auf diese Weise mehr oder minder große Mengen Aldehyd in Freiheit gesetzt werden. Schwarz hat die von den Proteinen gebundene Aldehydmenge in der Weise bestimmt, daß er das Verhältnis zwischen Kohlenstoff und Stickstoff in den Reaktionsprodukten feststellte.

Wir haben ein Verfahren gefunden, das ermöglicht, schnell und leicht die Veränderungen wahrzunehmen, die die Aldehyde in den in den Gewebeauszügen enthaltenen Eiweißkörpern bewirken. Dieses Verfahren beruht auf der von den Eiweißkörpern erworbenen Eigenschaft, durch verdünnte Essigsäure gefällt zu werden, sobald sie vorher der Einwirkung von Aldehyden ausgesetzt waren. Diese Eigentümlichkeit ist von Blum[4]) angegeben worden.

---

[1]) Battelli et Stern, Dedoublement de l'aldehyde éthylique en acide et alcool par les tissus animaux. Compt. rend. Soc. Biol. 68, 742, 1910.

[2]) Schwarz, Über Verbindungen der Tiereiweißkörper mit Aldehyden. Zeitschr. f. physiol. Chem. 31, 460, 1900.

[3]) Benedicenti, Beiträge zur Kenntnis der chemischen und physiologischen Wirkungen des Formaldehyds. Arch. f. Physiol. 1897. S. 217.

[4]) Blum, Über eine neue Klasse von Verbindungen der Eiweißkörper. Zeitschr. f. physiol. Chem. 22, 127, 1896.

Als Eiweißlösungen haben wir den wässerigen Auszug der Leber benutzt. Wir hatten auf diese Weise den Vorteil, mit Eiweißkörpern zu arbeiten, die in den Geweben vorkommen. Andererseits sind die quantitativen Resultate, die man bei Verwendung von anderen Proteinen, wie z. B. die Proteine des Blutserums, erzielt, gänzlich verschieden.

Das Verfahren ist im allgemeinen folgendes: Man läßt den Aldehyd auf den wässerigen Auszug eine bestimmte Zeit lang einwirken, fügt sodann etwas verdünnte Essigsäure hinzu, zentrifugiert längere Zeit und mißt den auf diese Weise erhaltenen Bodensatz. Falls der Aldehyd mit den Proteinkörpern eine Verbindung gebildet hat, oder falls er eine Veränderung in der Konstitution der Proteinkörper des Leberauszuges hervorgerufen hat, so nimmt der Umfang des Bodensatzes zu. Diese Zunahme des Umfanges ist mehr oder weniger groß und kann als Ausdruck der Intensität der durch den Aldehyd bewirkten Verbindungen oder sonstigen Veränderungen der Proteinsubstanzen betrachtet werden.

Zur Kontrolle dieses soeben angegebenen Resultats wird die durch Zentrifugieren erhaltene klare Flüssigkeit abgehoben, mit dem zweifachen Volumen Alkohol versetzt, zentrifugiert und hierauf der Umfang des Bodensatzes gemessen. Je größer der Umfang des Bodensatzes nach Zusatz von Essigsäure ist, um so kleiner wird hierauf der Bodensatz nach Zusatz von Alkohol sein.

Gehen wir nun zu den Einzelheiten über. In der Mehrzahl der Fälle verfahren wir wie folgt. Die Leber wird fein zerrieben und mit dem vierfachen Volumen Wasser versetzt. Unter häufigem Umrühren läßt man sie 15 Minuten lang im Kontakt, hebt die Flüssigkeit ab und versetzt sie mit einer 1%igen Lösung NaOH bis zu leicht alkalischer Reaktion (gegen Lackmus). Man zentrifugiert und erhält auf diese Weise eine trübe Flüssigkeit, auf die man die Aldehyde einwirken läßt.

Die Flüssigkeit wird auf mehrere Röhrchen verteilt und mit verschiedenen Mengen des zu untersuchenden Aldehyds versetzt. Die Röhrchen werden sodann in ein Wasserbad von konstanter Temperatur gebracht. Man neutralisiert alle 10 Minuten das Reaktionsgemisch, das eine ausgesprochene Neigung zur Säurebildung aufweist, namentlich wenn man die Aldehyde der Fettreihe benutzt. Nach Ablauf von 30 Minuten werden die Röhrchen aus dem Wasserbade herausgenommen, mit einer 1%igen Essigsäurelösung bis zu einer Gesamtkonzentration von 0,5:1000 versetzt, 30 Minuten lang zentrifugiert und hierauf der Umfang des Bodensatzes gemessen.

Die Temperatur, bei der die Reaktionsgemische während des Kontakts zwischen dem Leberauszuge und dem Aldehyd gehalten werden, übt einen merklichen Einfluß auf das Resultat aus. Wir werden in der Tabelle III zeigen, daß, um eine bestimmte Zunahme des Bodensatzes zu bewirken, die Menge Aldehyd bei 15° bedeutend größer sein muß als bei 40°.

Die Zunahme des Bodensatzes, die durch die Aldehyde bewirkt wird, ist durch den Einfluß bedingt, den die Aldehyde sowohl auf die Nucleoproteide als auch auf die in verdünnter Essigsäure löslichen Pro-

teinkörper ausüben. Läßt man einen Aldehyd auf die Nucleoproteide allein oder auf den von den Nucleproteiden befreiten Auszug einwirken, so erhält man in beiden Fällen nach Zusatz von Essigsäure eine Zunahme des Bodensatzes. Die Aldehydkonzentrationen, die diese Zunahme des Bodensatzes bewirken, sind in beiden Fällen ungefähr dieselben, die die Zunahme des Bodensatzes im unveränderten Leberauszuge hervorrufen.

Ein vorheriger Kontakt zwischen dem Leberauszuge und dem Aldehyd ist notwendig, um an den Proteinkörpern die Veränderungen hervorzubringen, die nach Zusatz von Essigsäure sichtbar werden. Setzt man zum Leberauszuge einen Aldehyd selbst in sehr starker Konzentration hinzu und behandelt gleich darauf das Reaktionsgemisch mit verdünnter Essigsäure, so zeigt der Bodensatz nach erfolgtem Zentrifugieren keine Zunahme. Schwartz hatte desgleichen bemerkt, daß die Menge Aldehyd, die sich mit den Proteinsubstanzen verbindet, mit der Zeit zunimmt.

Wir müssen zum Schluß noch folgende wichtige Bemerkung machen. Die Methode, die wir soeben beschrieben haben, läßt sich nicht bloß auf die Aldehyde anwenden, sondern auch auf andere Körper, wie z. B. die ölsauren Salze, das Chinon usw., die die Oxydone zerstören, ohne in den Gewebeauszügen Fällung zu verursachen. Nachdem diese Substanzen auf den Leberauszug eingewirkt haben, bemerkt man nach Zusatz der verdünnten Essigsäure eine mehr oder minder starke Zunahme des Bodensatzes.

VI. Die durch die Aldehyde bewirkte Veränderung der Proteinkörper ist irreversibel.

Die Veränderung der Proteinkörper des Leberauszugs unter dem Einfluß der Aldehyde besteht wahrscheinlich, wie wir bereits gesagt haben, in einer Verbindung dieser Substanzen mit den Aldehyden. Diese Verbindung ist eine dauernde, wenigstens wird sie bei Temperaturen, die 40° nicht überschreiten, nicht schnell zerstört. Benedicenti[1]) hatte die Beobachtung gemacht, daß unter dem Einfluß der Hitze die Verbindung des Aldehyds mit den Proteinkörpern in kleinerem oder größerem Maße zerstört werden kann, wobei der Aldehyd in Freiheit gesetzt wird.

Nun haben wir die Beobachtung gemacht, daß es nicht genügt, den Aldehyd durch die Wirkung des Vakuums zu entfernen, damit die veränderten Proteinkörper in ihren früheren Zustand zurückkehren. Nachdem die verschiedenen Aldehyde 30 Minuten lang bei 40° auf den Leberauszug eingewirkt haben, haben wir das Reaktionsgemisch einer Destillation bei

[1]) Benedicenti, l. c.

40° während 15 Minuten unterworfen. Der freie Aldehyd wird auf diese Weise entfernt. Behandelt man nun die auf diese Weise von Aldehyd befreite Flüssigkeit mit verdünnter Essigsäure und zentrifugiert hernach, so erhält man einen Bodensatz, dessen Umfang derselbe ist wie in der Kontrollprobe, wo der Aldehyd nicht entfernt worden war.

Desgleichen löst sich die Substanz, die den Bodensatz nach Zusatz von Essigsäure bildet, in verdünnter Essigsäure nicht wieder auf, wenn man den Aldehyd entfernt hat. Der Bodensatz kann wiederholt mit Essigsäure von 1:5000 gewaschen werden, ohne an Umfang merklich abzunehmen.

VII. Aldehydkonzentrationen, die eine Veränderung in den Proteinsubstanzen des Leberauszuges bewirken.

Unter Benutzung der soeben von uns beschriebenen Methode haben wir untersucht, welche Konzentrationen der verschiedenen Aldehyde eine Änderung der Proteinsubstanzen des Leberauszuges bewirken.

Die wässerigen Auszüge der Hammelleber geben nicht immer konstante Resultate. In der Mehrzahl der Fälle erzielt man Resultate die den in der Tabelle III angeführten analog sind. Aber es kommt ziemlich häufig vor, daß nach Behandeln mit Aldehyden in ziemlich starker Konzentration der Auszug auf Zusatz von Essigsäure keine Zunahme des Niederschlages aufweist. Wir wissen nicht, wodurch diese Unterschiede in der Zusammensetzung des wässerigen Leberauszuges bedingt sind.

Die Einwirkung der Aldehyde auf den Leberauszug fand in unseren Untersuchungen bei 15° und bei 40° statt und dauerte 30 Minuten.

In der Tabelle III stellen wir die Resultate einiger typischer Versuche zusammen.

Die in der Tabelle III zusammengestellten Resultate zeigen vor allem, daß die eine merkliche Veränderung der Proteinkörper bewirkenden Konzentrationen für die verschiedenen Aldehyde verschieden sind. So erhält man z. B. bei 40° das gleiche Resultat bei Anwendung folgender Konzentrationen der verschiedenen Aldehyde: 0,029 Mol Salicylaldehyd, 0,033 Mol Formaldehyd, 0,142 Mol Propylaldehyd und 0,273 Mol Acetaldehyd. Bei 40° ist also die Wirkung des Formaldehyds ungefähr die gleiche wie die des Salicylaldehyds, 4 mal stärker als die des Propylaldehyds und 8 mal stärker als die des Acetaldehyds.

Die Veränderung der Proteinkörper unter dem Einflusse

Tabelle III.

Umfang des Bodensatzes nach Zusatz von verdünnter Essigsäure zu 20 ccm Leberauszug, auf den man vorher die Aldehyde bei 15° und bei 40° hatte einwirken lassen.

Aldehyde	Konzentration Mol	Temperatur °C	Höhe des Bodensatzes mm
Formaldehyd	00	15	15
„	0,0330	15	15,5
„	0,0660	15	18
„	0,1330	15	20
„	0,1660	15	23
„	0,2650	15	25
„	0,3330	15	26
„	0,6660	15	26
„	00	40	15
„	0,0160	40	16
„	0,0330	40	19
„	0,0660	40	23
„	0,1330	40	28
„	0,1660	40	31
„	0,3330	40	32
Acetaldehyd	00	15	12
„	0,1820	15	12
„	0,3640	15	14
„	0,5460	15	15
„	0,7380	15	19
„	1,0920	15	21
„	00	40	12
„	0,0910	40	12
„	0,1460	40	13
„	0,1820	40	15
„	0,2730	40	17
„	0,3640	40	19
„	0,5460	40	22
„	1,0920	40	23
Prophylaldehyd	00	40	15
„	0,0420	40	15
„	0,0700	40	17
„	0,0400	40	21
„	0,2800	40	25
„	0,5600	40	26
Salicylaldehyd	00	15	13
„	0,0097	15	13
„	0,0194	15	14
„	0,0291	15	15
„	0,0388	15	16
„	0,0582	15	18
„	00	40	13
„	0,0097	40	13
„	0,0194	40	15
„	0,0291	40	17
„	0,0388	40	24
„	0,0582	40	25

der Aldehyde wird bei 40° durch schwächere Konzentrationen erzielt als bei 15°. Im allgemeinen läßt sich sagen, daß bei 15° eine doppelt so starke Konzentration eines Aldehyds nötig ist, um den gleichen Grad der Veränderung der Proteinkörper zu bewirken als bei 40°.

Man kann außerdem die Beobachtung machen, daß für den Formaldehyd das Verhältnis zwischen der Konzentration, die das Maximum der Veränderung bewirkt, und der Konzentration, bei der die Veränderung bemerkbar zu werden anfängt, ungefähr 10 beträgt. Für den Propylaldehyd ist dieses Verhältnis ungefähr 4 bis 5 und für den Acetaldehyd und den Salicylaldehyd nur 3.

VIII. Verhältnis zwischen den oxydonzerstörenden Konzentrationen der Aldehyde und den Konzentrationen, die eine Veränderung der Proteinkörper des Leberauszuges bewirken.

Vergleicht man die Resultate der Tabelle II mit denen der Tabelle III, so ergibt sich, daß für die verschiedenen Aldehyde ein enger Parallelismus und bisweilen eine völlige Übereinstimmung zwischen den Konzentrationswerten, die das Oxydon zerstören oder abschwächen, und den Konzentrationen, die eine Veränderung der Proteinkörper des Leberauszuges bewirken, besteht.

Nehmen wir z. B. die Werte, die sich auf die Wirkung der Aldehyde bei 40° beziehen. Der Acetaldehyd bewirkt eine Verminderung von 15 bis 20% der Wirkungsfähigkeit des Succinicoxydons der Muskeln in einer Konzentration von 0,16 Mol und zerstört das Oxydon völlig in einer Konzentration von 0,46 Mol. Nun beobachtet man, daß nach Zusatz von verdünnter Essigsäure der Umfang des Bodensatzes eine merkliche Zunahme aufweist, wenn die Konzentration des einwirkenden Acetaldehyds 0,18 Mol beträgt, und daß diese Zunahme bei einer Konzentration von 0,54 Mol Acetaldehyd das Maximum erreicht. Dasselbe kann auch für den Propylaldehyd und den Salicylaldehyd beobachtet werden.

Für den Formaldehyd ist die Übereinstimmung eine weniger vollkommene. Die Konzentrationen, die eine deutliche Veränderung der Proteinkörper des Leberauszuges bewirken, sind ungefähr 2 mal größer als die eine Abschwächung des Succinic-

oxydons um 15 bis 20 % bewirkenden. Desgleichen ist die Konzentration, die die maximale Zunahme des Bodensatzes bewirkt, ungefähr 2 mal so groß wie die zur völligen Vernichtung des Succinicoxydons nötige. Aber es sind dies relativ unbedeutende Abweichungen, die den engen Parallelismus zwischen der vernichtenden Wirkung an den verschiedenen Aldehyden auf die Oxydase und ihrer Fähigkeit, die Proteinkörper des Leberauszuges zu verändern, kaum abschwächen.

Vergleicht man diese Resultate mit den Ergebnissen der Versuche, betreffend die anderen Anaesthetica, so kann man folgendes bemerken. Sowohl für die Aldehyde als für die Anaesthetica existiert eine recht enge Beziehung zwischen der Wirkung dieser Substanzen auf das Succinicoxydon und ihrer Wirkung auf die Nucleoproteide. In der Tat haben wir in der ersten Arbeit gezeigt, daß die Konzentrationen der verschiedenen Anaesthetica, die zur Zerstörung des Oxydons erforderlich sind, nur wenig von den zur völligen Fällung der Nucleoproteide erforderlichen Konzentrationen abweichen. Andererseits haben wir soeben gezeigt, daß für die verschiedenen Aldehyde die Konzentrationen, die die Zerstörung des Oxydons bewirken, ungefähr die gleichen sind, die eine durch Zusatz von verdünnter Essigsäure zum Vorschein kommende Veränderung der Nucleoproteide bewirken.

IX. Allgemeine Betrachtungen.

Stellt man die in diesen beiden Arbeiten mitgeteilten Tatsachen mit den in früheren Arbeiten erzielten Versuchsergebnissen zusammen, so lassen sich folgende allgemeine Betrachtungen anstellen.

Die Oxydone stehen in enger Beziehung zu den Proteinsubstanzen der Gewebe. Diese Schlußfolgerung ergibt sich aus den Untersuchungen, die wir an den verschiedenen Anaesthetica und an den Aldehyden angestellt haben, deren Ergebnisse wir hier auseinandergesetzt, sowie aus unseren früheren Untersuchungen betreffend die Wirkung des Trypsins auf die verschiedenen Oxydone. Der direkte Zusammenhang zwischen den Oxydonen und den Proteinsubstanzen scheint uns also erwiesen.

Es bleibt übrig festzustellen, welcher Art dieses Verhältnis

zwischen den Proteinsubstanzen und den Oxydonen ist. Man kann zweierlei annehmen: 1. die Oxydone sind unlösliche Proteinsubstanzen, 2. die Oxydone sind an einen besonderen Zustand dieser Proteinsubstanzen gebunden. Falls das Oxydon ein Proteinkörper ist, so ist es begreiflich, daß jede Veränderung dieser Substanzen eine Vernichtung des Oxydons zur Folge haben kann. Aber man könnte auch annehmen, daß das Oxydon einfach an die Proteinkörper gebunden sei und daß sein normaler Zustand (z. B. kolloidaler Zustand) durch Fällung, Lösung oder andere Veränderungen dieser Proteinkörper eine Änderung erleide. Es scheint uns bis jetzt unmöglich, zwischen diesen beiden Hypothesen zu entscheiden. Die einfachste und wahrscheinlichste Annahme scheint uns jedoch zu sein, daß die Oxydone aus unlöslichen Proteinen bestehen, die wie spezifisch oxydierende Katalysatoren wirken und durch alle Agenzien vernichtet werden, die eine Änderung des Zustandes oder der Zusammensetzung der Nucleoproteide bewirken (Lösung durch proteolytische Fermente, Fällung durch die Anaesthetica, Verbindung mit den Aldehyden usw.). Wir wollen also einstweilen annehmen, daß die Oxydone in Wasser unlösliche Proteinkörper seien.

Die Proteine, die die Oxydone darstellen, dürften den Nucleoproteiden recht nahe stehen. In der Tat haben wir gesehen, daß zwischen der Wirkung der Anaesthetica und der Aldehyde auf die Oxydone und der Wirkung dieser Substanzen auf die Nucleoproteide ein enger Zusammenhang besteht. Es ist jedoch augenscheinlich, daß die Oxydone keine Nucleoproteide sind, denn letztere gehen in den wässerigen Auszug über, was für die Oxydone nicht der Fall ist. Infolgedessen können die durch die Anaesthetica oder die Aldehyde bewirkten Veränderungen der in den Gewebeauszügen enthaltenen Proteinkörper nicht völlig maßgebend sein für die Veränderungen der in den Gewebezellen zurückbleibenden unlöslichen Proteine.

Spitzer[1]) hat die Ansicht ausgesprochen, daß die Oxydationswirkung der Gewebe den Nucleoproteiden zugeschrieben werden muß, weil diese Oxydationswirkung in den Zellen stattfindet und in allen Geweben beobachtet wird, und weil die

[1]) Spitzer, Die Bedeutung gewisser Nucleoproteide für die oxydative Leistung der Zelle. Arch. f. d. ges. Physiol. 67, 615, 1897.

durch verdünnte Säuren bereiteten Nucleoproteide diese Wirkung aufweisen. Diese Nucleoproteide sollen nach Spitzer Eisen enthalten. Spitzer schreibt diesen Nucleoproteiden die Fähigkeit zu, H_2O_2 zu spalten, Salicylaldehyd zu Salicylsäure zu oxydieren und die oxydative Synthese des Indophenolblaus zu bewirken usw. Aber wir wissen jetzt, daß diese verschiedenen Reaktionen durch ganz verschiedene Prozesse bewirkt werden. Die Zersetzung des H_2O_2 wird durch die Katalase bewirkt, die Entstehung der Salicylsäure aus Salicylaldehyd wird durch die Aldehydase, die kein oxydierender Katalysator ist und den Salicylaldehyd in Salicylsäure und Saligenin spaltet, bewirkt. Die oxydative Synthese des Indophenolblaus muß dem Phenylendiaminoxydon zugeschrieben werden, das, wie wir soeben auseinandergesetzt haben, kein in Wasser lösliches Nucleoproteid ist, sondern vielmehr aus einem unlöslichen Proteinkörper besteht.

Es liegt kein Grund zur Annahme vor, daß die Oxydone in Beziehung zu den Lipoiden der Gewebe stehen.

Wir haben bereits gesagt, daß Vernon aus seinen Versuchen den Schluß gezogen hat, daß die oxydative Synthese des Indophenolblaus (durch das Phenylendiaminoxydon bedingt) von den in den Zellen enthaltenen Lipoiden abhängt. Vernon stützt sich dabei nicht auf direkte an den Lipoiden angestellte Versuche, sondern begnügt sich auf den Parallelismus hinzuweisen, der zwischen seinen Resultaten und den einerseits von Overton die Narkose betreffenden und andererseits den von Führer und Neubauer betreffend die Auflösung der roten Blutkörperchen durch die Alkohole erzielten Resultaten besteht. Nun ist aber die Theorie von Meyer-Overton, wonach die Wirkung der Narkotica von ihrer Wirkung auf die Lipoide abhängt, keineswegs bewiesen. Desgleichen ist es auch nicht bewiesen, daß die Auflösung der roten Blutkörperchen durch die Narkotica einer Veränderung der Lipoide der Blutzellen zugeschrieben werden müsse.

Diesen hypothetischen Schlußfolgerungen stellen wir die Resultate unserer Versuche entgegen, in denen wir direkt die Wirkung der verschiedenen Narkotica und der Aldehyde gleichzeitig auf die Oxydone und die Nucleoproteide der Gewebe

studiert haben. Diese Untersuchungen haben uns zur Annahme geführt, daß die Oxydone in enger Beziehung zu den Proteinkörpern der Gewebe stehen. Es liegt also kein Grund vor, die Oxydone in Beziehung zu den Lipoiden zu bringen. Ein solches Verhältnis zwischen Lipoiden und Oxydonen widerspricht der Tatsache, daß die Oxydone durch das Trypsin zerstört werden.

Es muß immerhin bemerkt werden, daß die Proteine, die die Oxydone darstellen, mit den Lipoiden verbunden sein können. Das Oxydon könnte demnach als eine Verbindung eines Proteins mit einem Lipoid gedacht sein. So weist z. B. das echte Vitellin oder das Pseudonuclein des Eidotters den Anaesthetica gegenüber das gleiche Verhalten auf wie die Nucleoproteide. Nun ist bekanntlich das Vitellin nichts anderes als eine Verbindung eines Globulins mit Lecithin. Wenn man auch nicht gänzlich ausschließen kann, daß die Oxydone eventuell aus einer Verbindung eines Proteins mit einem Lipoid bestehen, so ist doch bisher keine Tatsache bekannt, die zu dieser Annahme zwingen sollte.

Es ist auch kein Grund vorhanden anzunehmen, daß die eigentliche Atmung der Gewebe der Mitwirkung von Lipoiden zuzuschreiben sei. Warburg[1]) nahm an, daß die Oxydationsvorgänge in enger Beziehung zu dem physikalischen Zustande der Lepoide stehen, und zwar auf Grund seiner Versuche, betreffend den Einfluß der Anaesthetica auf die eigentliche Atmung der Gänseerythrocyten. In einer späteren Arbeit behaupten Warburg und Wiesel[2]), daß die Anasthetica in den Zellen reversible physikalische Zustandsänderungen unbestimmter Natur hervorrufen.

Einige Bemerkungen über die Wirkungsweise der Anaesthetica. Wir wollen hier nicht weiter auf die einzelnen Theorien betreffend die Wirkungsweise der Anaesthetica eingehen. Die Theorie von Meyer-Overton, die sich hauptsächlich auf die Tatsache stützt; daß zwischen dem Teilungskoeffizienten der verschiedenen Anaesthetica und deren narko-

---

[1]) Warburg, Über Beeinflussung der Sauerstoffatmung. Zeitschr. f. physiol. Chem. 70, 413, 1911.

[2]) Warburg und Wiesel, Über die Wirkung von Substanzen homologer Reihen auf Lebensvorgänge. Arch. f. d. ges. Physiol. 144, 465, 1912.

tischer Wirkung ein gewisser Parallelismus nachgewiesen werden kann, ist gut bekannt. Man hat gegen diese Theorie mehrere Einwendungen gemacht, unter anderen folgende. Diese Theorie stützt sich nicht auf direkte Beobachtungen; die Lipoide finden sich hauptsächlich im Endoplasma, während die peripheren Schichten der Zellen keine Lipoide enthalten sollen usw.

Nach Moore und Roaf[1]) wirken die Anaesthetica auf die Proteinsubstanzen des Protoplasmas, mit denen sie chemische unbeständige Verbindungen bilden, wodurch eine Verminderung der Funktion des Protoplasmas bewirkt wird. Damit diese Verbindungen nicht auseinanderfallen, darf die Konzentration des Anaestheticums nicht unter einen bestimmten Grad sinken.

Wir haben gesehen, daß, nach den Ergebnissen unserer Untersuchungen, für die verschiedenen Anaesthetica ein viel engerer Parallelismus zwischen den Konzentrationen, die die Fällung der Nucleoproteide bewirken, und den Konzentrationen, die Narkose hervorrufen, besteht, als zwischen letzteren und den Teilungskoeffizienten. Wollte man folglich sich auf diesen Parallelismus stützen, so müßte man annehmen, daß die Anaesthetica viel eher auf die Proteinkörper wirken, als auf die Lipoide. Selbstverständlich verursachen die Anaesthetica Narkose bei viel niedrigeren Konzentrationen als die zur Fällung der Nucleoproteide nötigen. In schwächeren Konzentrationen bewirken aber die Anaesthetica mancherlei Zustandsänderungen der Proteinkörper, die sich z. B. durch eine Steigerung der Viscosität kundgeben.

Simon[2]) hat eine Reihe von Untersuchungen diesen Punkt betreffend ausgeführt, indem er mehrere Alkohole, Aceton usw. auf das Serum einwirken ließ. Es wäre zu wünschen, daß Untersuchungen dieser Art sich häufen und daß sie in Beziehung zu dem narkotischen Vermögen der verschiedenen Substanzen gebracht werden.

Es ist von Interesse, daß die Aldehyde, die in relativ schwachen Konzentrationen mit den Nucleoproteiden Verbin-

---

[1]) Moore and Roaf, On certain physical and chemical properties of solution of chloroform in water, saline, serum and haemoglobin. Proc. Roy. Soc. 73, 382, 1904.

[2]) Simon, Ricerche sulla coagulazione dell' albumina Riassunto critico. Arch. di Fisiologia 5, 479, 1908.

dungen eingehen (was für die Alkohole, Ketone, Urethane usw. nicht der Fall ist), in bezug auf die Narkose ein anderes Verhalten aufweisen. Wie wir bereits gesagt haben, betrachtet Overton die Aldehyde nicht als echte Narkotica, weil ihre Wirkung eine progressive ist.

Nach Verworn[1]), Mansfeld[2]) usw. wirken die Anaesthetica durch Verminderung der Oxydationsvorgänge in den Nervenzentren. Es ist schwer zu entscheiden, ob die Herabsetzung der Oxydationsvorgänge die Ursache oder die Folge der Narkose ist. Wir verzichten, hier diesen Punkt eingehender zu diskutieren und wollen uns auf die Beobachtung beschränken, daß in vitro die Hauptatmung durch Äthylalkohol oder Aceton in einer Konzentration von 5$^0/_0$ kaum beeinflußt wird. Und doch ist diese Konzentration dreimal höher als die zur Narkose erforderliche. Es ist jedoch selbstverständlich, daß die Versuche in vitro nichts weiter als eine Andeutung dessen geben können, was im Tierorganismus vorgeht.

X. Experimentelle Ergebnisse.

1. Unterhalb einer gewissen Konzentration bewirken die Aldehyde keine Verminderung der Oxydation der Bernsteinsäure durch die Gewebe und greifen das Succinicoxydon nicht an (diese Beobachtung ist für das Phenylendiaminoxydon bereits gemacht worden).

2. Die Aldehydkonzentrationen, die zur Vernichtung des Succinicoxydons nötig sind, weichen nicht stark von den Konzentrationen ab, die das Oxydon anzugreifen beginnen. Die Abweichung ist jedoch für den Formaldehyd sehr stark (eine von Vernon für das Phenylendiaminoxydon bereits gemachte Beobachtung).

3. In Konzentrationen, die zur Vernichtung der Oxydone genügend sind, bewirken die Aldehyde keine Fällung der in dem Leberauszuge enthaltenen Nucleoproteide. In dieser Beziehung verhalten sich die Aldehyde ganz anders als die anderen Anaesthetica.

---

[1]) Verworn, Die Vorgänge in den Elementen des Nervensystems. Zeitschr. f. allg. Physiol. 6, 11, 1906.

[2]) Mansfeld, Narkose und Sauerstoffmangel. Arch. f. d. ges. Physiol. 129, 69, 1909.

4. Alle Aldehyde besitzen die Fähigkeit, eine Veränderung der Proteinkörper des wässerigen Leberauszuges, namentlich der Nucleoproteide, zu bewirken. Diese Veränderung kann quantitativ bestimmt werden, und zwar durch Messung des Umfanges des Bodensatzes, den man durch Zentrifugieren nach Zusatz von verdünnter Essigsäure des mit einem Aldehyd vorbehandelten Leberauszugs erhält. Diese Veränderung ist bei gewöhnlicher Temperatur eine dauernde.

5. Für die Mehrzahl der Aldehyde besteht eine fast vollständige Übereinstimmung zwischen ihrer Fähigkeit die Proteinkörper zu verändern und ihrer zerstörenden Wirkung auf das Succinicoxydon.

6. Die Zerstörung des Succinicoxydons wird durch viel schwächere Aldehydkonzentrationen erzielt, wenn der Kontakt bei 40° stattfindet, als bei einer Temperatur von 15°.

7. Der Einfluß der Aldehyde auf die Wirkungsfähigkeit des Succinicoxydons ist nicht viel ausgesprochener, wenn die Aldehyde während der Oxydation der Bernsteinsäure zugegen sind, als wenn sie nach vorherigem Kontakte mit den Geweben durch Auswaschen entfernt worden sind. Die Zerstörung des Oxydons durch die Aldehyde ist also eine irreversible.

8. Die Zerstörung der Oxydone durch die Aldehyde muß einer Einwirkung der Aldehyde auf die unlöslichen Proteinsubstanzen der Gewebe zugeschrieben werden. Es liegt kein Grund vor anzunehmen, daß die Aldehyde die Oxydone durch Einwirkung auf die Lipoide vernichten.

Über eine Farbenreaktion von Gallussäure sowie Tannin (Gerbsäure) und über die Anwendung dieser Probe.

Von

O. Schewket, Saloniki.

(Aus der chemischen Abteilung des Tierphysiologischen Instituts der Kgl. Landwirtschaftlichen Hochschule, Berlin.)

(Eingegangen am 1. Juni 1913.)

Man versetzt in einem Becherglas oder Meßzylinder von 0,5 l Inhalt 3 ccm 1°/₀ ige Jod-Jodkaliumlösung mit 2 ccm einer 1°/₀ igen Lösung von Gallus- oder Gerbsäure. Man schüttelt alsdann um und fügt 300 bis 500 ccm Leitungswasser hinzu. Dabei tritt eine schöne rotviolette Färbung auf. Es hat sich herausgestellt, daß die alkalisch reagierenden Bestandteile des Leitungswassers diese Reaktion bedingen.

Denn man kann statt Leitungswasser auch sehr verdünnte Lösungen von Alkalikarbonaten oder alkalisch reagierenden Salzen (Natriumborat oder Dinatriumphosphat) sowie die Alkalisalze vieler organischer Säuren (Formiat, Acetat, Tartrat, Zitrat, Oxalat) benutzen. Sie alle erzeugen dieselbe rotviolette Nuance.

Verdünnte organische Säuren sowie Jodwasserstoffsäure stören die Reaktion nicht. Wohl aber verhindern selbst verdünnte Mineralsäuren ihr Zustandekommen. Auch stark konzentrierte Ätzalkalien und kohlensaure Alkalien geben nicht die erwähnte schöne Rotviolettfärbung, sondern liefern mit dem Jod-Tanninreagens eine schmutzigbraune Färbung. Die Salze von organischen und schwach anorganischen Säuren (Borax und Alkaliphosphat) erzeugen dagegen auch in beträchtlicher Konzentration eine kräftige Rotviolettfärbung.

Da auch überschüssiges Tannin das Zustandekommen der Reaktion verhindert, muß man, um einen sicheren Ausfall der Probe zu erzielen, Jod in Überschuß anwenden.

Mit der beschriebenen Reaktion läßt sich Gallusgerbsäure von manchen anderen Tanninarten unterscheiden, sofern dieselben frei von Gallussäure sind, z. B. Kinotannin, Catechutannin Chinatannin, Kaffeetannin, Ratanhiatannin usw. Diese Tanninsorten geben mit Jod und Alkali keine Rotviolettfärbung. Man kann also mit dieser Reaktion Gallussäure, sowie Gallusgerbsäure in Pflanzenprodukten nachweisen.

Anwendung der Jod-Tanninreaktion.

1. Nachweis von Gallusgerbsäure in Pflanzenpulvern.

Man kocht 3 g Pflanzenpulver mit destilliertem Wasser aus und filtriert. Zum Filtrat setzt man 40 ccm des von Denigès empfohlenen Reagens[1]). Man erhitzt bis zum Sieden, wobei Gallus- und Gerbsäure (nebst anderen Tanninen) ausfallen. Den abfiltrierten Niederschlag wäscht man dreimal mit Wasser aus. Man suspendiert alsdann den Niederschlag in etwa 50 ccm destilliertem Wasser, fügt tropfenweise 5%ige Schwefelsäure hinzu, die vorwiegend Gallussäure sowie Gallusgerbsäure löst, die anderen Tanninarten aber z. T. ungelöst läßt. Man darf hierzu nicht mehr als 10 Tropfen Schwefelsäure benutzen, in der Regel reichen 1 bis 3 Tropfen aus. Man filtriert die schwefelsaure Lösung und setzt zum Filtrat zur Abstumpfung der freien Schwefesäure etwa 0,5 g Jodkalium oder Natriumacetat und setzt nun 1%ige Jodlösung bis zum Eintritt einer Orangegelbfärbung hinzu. Dann verdünnt man reichlich mit Leitungswasser oder mit 200 ccm 0,5%iger Lösung von Natriumacetat. Eine eintretende Rotviolettfärbung zeigt die Anwesenheit von Gallusgerbsäure bzw. Gallussäure an.

2. Nachweis von Tannin und Gallussäure in pharmazeutischen Präparaten (Dermatol, Chinintannat usw.)

Dermatol (Wismutsubgallat) ist in Wasser, Alkohol und Säuren unlöslich. Zum Nachweis der Gallussäure muß man jedoch das Dermatol in Lösung bringen. Zu diesem Zweck

---

[1]) 10 g Zinkoxyd, gelöst in der notwendigen Menge Essigsäure, aufgefüllt mit destilliertem Wasser und 80 ccm Ammoniak zu 1 Liter.

versetzt man ungefähr 0,1 g Dermatol mit 25 ccm destilliertem Wasser in einem Erlenmeyerkolben und fügt tropfenweise möglichst wenig Natron- oder Kalilauge (2 bis 3 Tropfen) hinzu und kocht bis zur möglichst vollständigen Lösung. Man füllt die Flüssigkeit mit Wasser auf 500 ccm auf, fügt 0,1 g Natriumbicarbonat (fest) sowie 3 bis 4 ccm 1 $^0/_0$ ige Jod-Jodkaliumlösung hinzu und schüttelt um, wobei die rotviolette Färbung eintritt.

Chinintannat und viele andere Alkaloidsalze des Tannins lösen sich in heißem Alkohol. Nach Abkühlung fügt man ca. 30 ccm Alkohol und 2 $^0/_0$ ige alkoholische Jodlösung bis zum Eintritt der Gelbfärbung hinzu und verdünnt mit 0,5 $^0/_0$ Natriumacetatlösung. Auch hier tritt die rotviolette Nuance auf.

3. Alkalinitätsprüfung.

Man bereitet folgende Lösungen:

a) 1 g Jod, 2,5 g Jodkalium, 100 ccm destilliertes Wasser,

b) 1 g Gallusgerbsäure in 100 ccm destilliertem Wasser.

Je 3 Tropfen der beiden Lösungen mischt man und verdünnt mit destilliertem Wasser ungefähr auf 10 ccm und fügt ebensoviel von der zu untersuchenden Flüssigkeit hinzu. Eine hierbei auftretende schmutzigbraune Färbung spricht für Ätzlaugen oder konzentriertes Alkalicarbonat. Beim Eintritt von rotvioletter Färbung können sehr verdünnte Alkalien sowie alkalisch reagierende Salze (Phosphate, Borate) und Salze organischer Säuren vorhanden sein. Säuert man die zu untersuchende Lösung mit 0,1 n-Salzsäure gegen Lackmus schwach an, derart daß noch in der Siedehitze schwach saure Reaktion besteht, und stellt die Probe nach gehöriger Verdünnung mit destilliertem Wasser und Abkühlung nochmals an, so zeigt der Eintritt der Rotviolettfärbung, daß Salze organischer Säuren vorgelegen haben. (Unterschied von Carbonaten, Phosphaten und Boraten.)

4. Alkalinitätsprüfung bei festen Substanzen.

In ein Reagensglas gibt man 5 bis 10 Tropfen der gemischten Lösung a + b und füllt mit destilliertem Wasser bis nahezu zum Rande. Nach Einwerfen erbsen- oder bohnengroßer Stücke von Ätzkali bekommt man sofort eine schmutziggelbe Nuance am Boden, während ein vergänglicher rosa Saum

sich nach oben verbreitet. Beim Einbringen von kohlensauren Alkalien ist die Umgebung der zu Boden gesunkenen Substanzen tief violett gefärbt, während die überstehende Flüssigkeit farblos erscheint. Nach einiger Zeit jedoch tritt auch hier vorübergehend Rosafärbung ein. Beim Einwerfen fester Partikel von Borax oder von Phosphat oder organischer Salze (Seignettesalz) verbreitet sich vom Boden her eine längere Zeit beständige Violettfärbung durch die Flüssigkeitssäule.

5. Unterscheidung von Mineralsäuren von organischen Säuren bzw. Erkennung nebeneinander.

In einem Becherglas versetzt man 10 bis 25 ccm der zu untersuchenden Säurelösung mit etwas Natron- oder Kalilauge bis zu schwach alkalischer Reaktion. Dann wirft man einen Streifen blaues Lackmuspapier hinein und läßt aus einer Bürette tropfenweise 0,1 n-Salzsäure bis zur deutlichen Rötung des Lackmuspapiers zulaufen. Man verdünnt nunmehr stark mit destilliertem Wasser. Alsdann gibt man in ein Reagensglas 5 bis 10 Tropfen des gemischten Jod-Tanninreagens und füllt dasselbe mit der obigen titrierten Lösung. Eintritt von Violettfärbung zeigt organische Säure an. Das Ausbleiben spricht für Mineralsäure.

Weitere Versuche am Fleischfresser über die stickstoffsparende Wirkung von Salzen, besonders von Natriumacetat.

Von

Ernst Pescheck.

(Aus dem Zootechnischen Institut der kgl. Landwirtschaftlichen Hochschule zu Berlin.)

(Eingegangen am 27. Mai 1913.)

Im vergangenen Jahre habe ich in dieser Zeitschr. **45**, S. 266 einen Versuch mitgeteilt, der erkennen ließ, daß essigsaures Natron den Stickstoffumsatz des Hundes einzuschränken vermag. Dieser Befund veranlaßte mich, der Frage näher zu treten, unter welchen Bedingungen besonders derartige stickstoffsparende Wirkungen zu beobachten sind, und ferner festzustellen inwieweit stickstofffreie Salze, besonders Natriumacetat, in ihrer Wirkung den Ammoniaksalzen vergleichbar sind. Bekanntlich haben Versuche mit Ammoniaksalzen, ganz besonders mit Ammonacetat (und -citrat), beim Fleischfresser ergeben, daß diese stickstoffsparend wirken. Es lag nahe, diese Wirkung auf den Stickstoff resp. Ammoniakgehalt der Salze zurückzuführen. So glaubt Völtz[1]) z. B., daß sich aus dem Ammoniak und stickstofffreien Nährstoffen komplizierte chemische Verbindungen im Organismus bilden, die von diesem zum Aufbau seines Eiweißbestandes verwertet werden können. Ed. Grafe[2]) ging noch einen Schritt weiter und hält die Annahme einer direkten Synthese aus Ammoniak und stickstofffreien Nährstoffen zu Eiweiß für die plausibelste Erklärung der stickstoffsparenden Wirkung, die er mit citronensaurem Ammoniak beim

---

[1]) Zeitschr. f. physiol. Chem. 79, 415, 1912.

[2]) Ebenda 77, 1, 1912.

Hunde gefunden hatte. Verschweigen darf man allerdings wohl nicht, daß Grafe neuerdings skeptischer geworden zu sein scheint, denn er schreibt in der Zeitschr. f. physiol. Chem. **84**, 93: daß, „Wenn es weder gelingt, das Leben zu erhalten noch das Wachstum zu fördern, es am wahrscheinlichsten ist, daß der angesetzte Stickstoff nicht zu Eiweiß geworden ist." Alonzo Englebert Taylor und A. J. Ringer[1]) berichten in einer ganz kürzlich erschienenen Arbeit über Stickstoffretentionen, die sie mit Ammoniaksalzen erhielten. Sie erklären die Retentionen durch die Annahme, daß das Ammoniak in der Darmwand und Leber auf den Prozeß der Desaminierung reversibel einwirkt.

Beim Wiederkäuer, in dessen Verdauungstraktus eine im Vergleich mit dem Fleischfresser bedeutend umfangreichere Bakterientätigkeit bei der Ernährung in Betracht kommt, führt man die mit Ammoniaksalzen gefundene Stickstoffsparung auf synthetische Wirkungen der Bakterien zurück. Für diese Auffassung dürfte, wie ich schon in meiner letzten Arbeit in dieser Zeitschr. **46**, 280 schrieb, besonders durch die Versuche von Fingerling der Beweis erbracht sein.

Es unterliegt nun aber wohl keinem Zweifel, daß, wenn man mit stickstofffreien Salzen, z. B. mit Natriumacetat, den gleichen Effekt wie mit Ammoniaksalzen zu erzielen vermag, alle bisherigen Erklärungen hinfällig werden, da man diese doch unmöglich auf die Wirkung von stickstofffreien Salzen anwenden kann.

Da ich heute lediglich nur Versuche mit Hunden, also mit Fleischfressern, mitteilen kann, so bleibt die Frage der stickstoffsparenden Wirkung von Salzen beim Wiederkäuer unberührt.

Über die bisher vorliegenden Versuche, die diese Frage berühren, kann ich mich kurz fassen, da Literaturzusammenstellungen von anderer Seite bereits gemacht worden sind[2]). Besonders erwähnen möchte ich hier nur einige neuere Arbeiten und die Versuche, die speziell mit Natriumacetat ausgeführt

[1]) Journ. of Biolog. Chem. **14**, 407, 1913.

[2]) Oppenheimers Handb. d. Biochem. **4**, 1. Hälfte, S. 759 bis 768 (Caspari). — Ergebn. d. Physiol. 3. Jahrg., 1. Abt., 275, 1904; 8. Jahrg., 268, 1909; 12. Jahrg., 1, 1912.

worden sind. Jacques Mayer[1]) hatte bei Natriumacetatgaben an Hunde eine Herabsetzung der Stickstoffausscheidung gefunden. Da aber seine Methodik nicht einwandfrei war und namentlich Salkowski und Munk[2]) beim Hunde das entgegengesetzte Ergebnis, nämlich eine mäßige Steigerung des Eiweißzerfalles beobachteten, fanden die Mayerschen Befunde keine Beachtung. Weiske und Flechsig[3]) gaben Natriumacetat an Kaninchen und Hammel und fanden eine Steigerung des Stickstoffumsatzes. Neuerdings hat Abderhalden und Arno Ed. Lampé[4]) Natriumacetat an Schweine gefüttert und eine Abnahme der Stickstoffausscheidung feststellen können. Ferner hat Abderhalden in Gemeinschaft mit Paul Hirsch[5]) Versuche mit Natriumnitrat an Hunden und am Schwein gemacht und ist zu dem gleichen Ergebnis wie Rost[6]) gekommen, nämlich, daß Gaben von Natronsalpeter eine Stickstoffsparung zur Folge haben. Dasselbe hat übrigens Rost auch für Borpräparate[7]) und Natriumnitrit[8]) gefunden. Abderhalden fand aber trotz der Herabsetzung der Stickstoffausscheidung den Nitratstickstoff im Harn quantitativ wieder. Infolgedessen mahnt Abderhalden zu großer Vorsicht bei Beurteilung von Stickstoffretentionen, schließt sich also insofern meinen Bedenken, die ich schon früher geäußert habe, an. Ebenso ist er auch wie ich der Ansicht, daß von einer Verwertung des Stickstoffs der verfütterten Salze zu einer Synthese von Aminosäuren usw. oder gar von Eiweiß aus den bisherigen Stoffwechselversuchen nicht geschlossen werden darf.

Hagemann[9]) fand bei 2 Hammeln und 1 Stier, daß Kalk und auch Phosphorsäure eine Einschränkung des Stickstoffumsatzes bewirkten. Soweit es den Kalk betrifft, entspricht dieses Ergebnis dem Weiskeschen[10]) Befunde, der das gleiche für milchsaures Calcium fand.

---

[1]) Zeitschr. f. klin. Med. **3**, 82 bis 95, 1881.
[2]) Virchows Archiv **71**, 500, 1877.
[3]) Journ. f. Landw. **37**, 199, 1889.
[4]) Zeitschr. f. physiol. Chem. **83**, 411, 1913.
[5]) Ebenda **84**, 189, 1913.
[6]) Arbeiten d. Kais. Ges.-Amts **18**, 78, 1901.
[7]) Ebenda **19**, 1, 1902.
[8]) Ebenda **24**, 305, 1910.
[9]) Arch. f. d. ges. Physiol. **146**, 455, 1912.
[10]) Journ. f. Landwirtsch. **37**, 215, 1889.

Bevor ich auf meine Versuche zu sprechen komme, habe ich noch etwas über die Versuchsanstellung im allgemeinen zu sagen.

Es kam mir zunächst lediglich darauf an, in ganz einfachen Fütterungsversuchen mit Hunden die Verhältnisse festzustellen, unter denen essigsaures Natron die Stickstoffbilanz beeinflußt. Ferner war ich bestrebt, die Versuche so einfach zu gestalten, daß sie nach Möglichkeit ohne Störungen durchgeführt werden konnten. Ich glaube, daß derartige zahlreiche einwandfreie Versuche sichere Schlüsse gestatten werden, die uns der Klärung der Frage der Stickstoffretentionen durch Salze zum mindesten näher bringen. Da eine derartige Versuchsanstellung natürlich sehr mühsam und zeitraubend ist, habe ich meine Versuche bisher auf Fleischfresser beschränken müssen.

Über die von mir befolgte Methodik kann ich auf meine früheren Angaben verweisen. Zu erwähnen ist nur, daß ich die Futterstoffe diesmal bloß auf Stickstoff analysiert habe. Für die Calorien habe ich aus früheren Bestimmungen von mir Mittelzahlen genommen, da ich den Energiewechsel zu bestimmen von vornherein nicht in Aussicht genommen hatte. Unter diesen Umständen war die genaue Angabe der verfütterten Calorien zwecklos. Wenn ich übrigens bei meinen früheren Versuchen dies doch getan hatte, so geschah es nur, weil ich die Verbrennungswärmen der Futterstoffe für alle Fälle bestimmt hatte. Als Mittelzahlen habe ich diesmal folgende in Rechnung gesetzt:

1 g Pferdefleisch (frisch)	1,6 Cal.
1 g Reis	3,7 „
1 g Schweineschmalz	9,6 „

Dieser Mittelzahlen konnte ich mich um so mehr bedienen, weil die bei den verschiedensten Proben früher erhaltenen Werte nur wenig voneinander abwichen. Sie genügen also für meine Zwecke vollständig.

Den Kot habe ich in allen Versuchen mit Kieselsäure abgegrenzt. Ich halte diese Abgrenzung nach meinen Erfahrungen für die beste. Die Kieselsäure oder richtiger Hydratkieselsäure stellte ich mir selbst dar durch Ausfällen von rohem Wasserglas mit Salzsäure, Auswaschen mit Wasser und Trocknen auf dem Wasserbade.

Dem Futter setzte ich wieder täglich eine Messerspitze eines Salzgemisches zu (vgl. Caspari, Tigerstedt, Handb. d. physiol. Methodik 1, Abt. 3, 50).

Bei den Salzzulagen habe ich die wenigen Calorien, die für die organischen Säuren in Rechnung gesetzt werden konnten, nicht berücksichtigt, einmal weil diese auf keinen Fall für meine Versuche in Be-

tracht kommen konnten und ferner, weil sie überhaupt nur zum Teil vom Organismus verwertet werden.

Schließlich möchte ich nicht unterlassen, noch ausdrücklich zu bemerken, daß ich alle Einzelarbeiten, die für meine Versuche erforderlich waren, wieder persönlich ausgeführt habe.

Ich habe folgende Versuche angestellt:

Versuch 1.

Die fast im Stickstoffgleichgewicht befindliche Hündin VI erhielt zum Grundfutter (pro Kilogramm Lebendgewicht 0,48 g N und ca. 126 Cal.) Zulagen von

a) Ammonacetat,
b) Natriumacetat.

Versuch 2.

Die auf negative N-Bilanz eingestellte Hündin VI erhielt zum Grundfutter (pro Kilogramm Lebendgewicht 0,21 g N und ca. 116 Cal.) Zulagen von

a) Natriumacetat,
b) Ammonacetat.

Versuch 3.

Die auf positive N-Bilanz eingestellte Hündin V erhielt zum Grundfutter (pro Kilogramm Lebendgewicht 0,38 g N und ca. 75 Cal.) Zulagen von

a) Natriumcitrat,
b) Natriumacetat.

Dieselbe Hündin, auf negative N-Bilanz eingestellt, erhielt zum Grundfutter (pro Kiogramm Lebendgewicht 0,41 g N und ca. 67 Cal.) Zulagen von Natriumacetat.

Versuch 4.

Die ungefähr im Stickstoffgleichgewicht befindliche Hündin VI erhielt zum Grundfutter (pro Kilogramm Lebendgewicht 0,48 g N und ca. 73 Cal.) Zulagen von

a) Ammonlactat,
b) Ammonacetat,
c) Natriumacetat.

Dieselbe Hündin, auf negative N-Bilanz eingestellt, erhielt zum Grundfutter (pro Kilogramm Lebendgewicht 0,38 g N und ca. 81 Cal.) Zulagen von Natriumacetat.

Versuch 5.

Die auf negative N-Bilanz eingestellte Hündin V erhielt zum Grundfutter (pro Kilogramm Lebendgewicht 0,26 g N und ca. 61 Cal.) Zulagen von Natriumacetat.

Dieselbe Hündin erhielt am Schlusse des Versuches noch Zulagen zum Grundfutter von Natriumacetat + Chlorcalcium und von Magnesiumacetat.

Die Hündin VI, auf negative N-Bilanz eingestellt, erhielt zum Grundfutter (pro Kilogramm Lebendgewicht 0,44 g N und ca. 120 Cal.) Zulagen von Natriumacetat und von Natriumacetat + Chlorcalcium.

Versuch 6.

Die auf negative N-Bilanz eingestellte Hündin V erhielt zum Grundfutter (pro Kilogramm Lebendgewicht 0,34 g N und ca. 75 Cal.) Zulagen von

a) Natriumcitrat,
b) Natriumlactat,
c) Natriumtartrat,
d) Kochsalz.

Versuch 7.

Die auf negative N-Bilanz eingestellte Hündin X erhielt zum Grundfutter (pro Kilogramm Lebendgewicht 0,29 g N und ca. 91 Cal.) Zulagen von

a) verd. Essigsäure (mittels Schlundsonde),
b) Natriumacetat,
c) Ammonacetat,
d) Natriumacetat.

Versuch 1.

Er bezweckte einen Vergleich zwischen der Wirkung von Ammonacetat und Natriumacetat. Das Versuchstier war eine Foxterierhündin VI, die ich seit Jahren als sehr wertvolles Versuchstier benutze und das auch bei diesen Versuchen wieder mehrfach Verwendung fand. Wegen ihrer beispiellosen Freßlust, sie fraß z. B. stets die Kieselsäureabgrenzung mit wenig

Wasser angerührt und etwas erwärmt ohne irgendwelche Futterbeigabe, ist dieses Tier für Fütterungsversuche ganz besonders geeignet.

Die Hündin bekam zunächst, nachdem sie 3 Tage, vom 10. bis 12. Mai 1912 gehungert hatte, wobei sich das Lebendgewicht von 8,50 kg auf 7,97 kg verringert hatte, mehrere Tage lang ein Grundfutter folgender Zusammensetzung:

80 g	Pferdefleisch . . .	2,74 g N, ca.	128 Cal.
80 „	Reis	1,06 „ „ „	296 „
60 „	Schweineschmalz .	—	576 „
2 „	Kochsalz	—	—
		3,80 g N, ca.	1000 Cal.

Nach 4 Tagen, am 17. Mai, begann der Versuch.

1. Periode.

Grundfutter . . . . 3,80 g N, ca. 1000 Cal.
Pro Kilogramm Lebendgewicht[1]) . . 0,48 „ „ „ 126 „

Tabelle I.

1912	N-Einnahme g	N-Ausgabe im Harn g	Kot g	zus. g	N-Bilanz g	Leb.-Gew. kg	Bemerkungen
17.—18. V.	3,80	3,41	0,61	4,02	— 0,22	8,13	9 Uhr früh Kot abgegrenzt. Kot nicht abgesetzt vor dem Wiegen.
18.—19. „	3,80	3,22	0,61	3,83	— 0,03	8,06	
19.—20. „	3,80	3,31	0,61	3,92	— 0,12	8,07	
20.—21. „	3,80	3,55	0,61	4,16	— 0,36	8,07	
21.—22. „	3,80	3,26	0,61	3,87	— 0,07	8,10	
Mittel pro Tag	3,80	3,35	0,61	3,96	— 0,16	8,09	

Obwohl das Tier ausreichend Stickstoff und sehr reichlich Calorien im Futter erhielt, ist es doch nicht ganz ins Stickstoffgleichgewicht gekommen. Die Stickstoffbilanz ist im Durchschnitt pro Tag schwach negativ — 0,16 g.

2. Periode.

Zum Grundfutter legte ich jetzt 1 g N in Form von Ammonacetat zu.

Pro Tag . . . . 4,80 g N, ca. 1000 Cal.
„ Kilogramm Lebendgewicht . . 0,59 „ „ „ 125 „

[1]) Als Lebendgewicht nahm ich stets das Mittel der Gewichte des Tieres während der betreffenden Periode.

Tabelle II.

1912	N-Einnahme g	N-Ausgabe im Harn g	Kot g	zus. g	N-Bilanz g	Leb.-Gew. kg	Bemerkungen
22.—23. V.	4,80	4,25	0,56	4,81	— 0,01	8,13	9 Uhr früh Kot abgegrenzt.
23.—24. „	4,80	4,16	0,56	4,72	+ 0,08	8,07	
24.—25. „	4,80	4,31	0,56	4,87	— 0,07	8,11	
25.—26. „	4,80	4,35	0,56	4,91	— 0,11	8,14	
26.—27. „	4,80	4,37	0,56	4,93	— 0,13	8,17	
Mittel pro Tag	4,80	4,29	0,56	4,85	— 0,05	8,12	

Die tägliche mittlere Stickstoffbilanz ergibt, daß Ammonacetat in diesem Falle eine Wirkung kaum auszuüben vermocht hat. Der Stickstoffumsatz nach den Harn-N-Zahlen ist um 0,94 g, also fast um die Zulage von 1 g, vermehrt. Da der Kotstickstoff um 0,05 g vermindert ist, berechnet sich im ganzen eine Retention von 0,11 g N, die aber wegen ihrer Geringfügigkeit bedeutungslos ist, um so mehr, als die Hälfte der Retention durch den Kotstickstoff bedingt ist. Wie bei meinen früheren Versuchen habe ich eine diuretische Wirkung in beachtenswertem Maße nicht beobachten können.

3. Periode.

Zur Erkennung der Nachwirkung wurde wieder das Grundfutter gereicht.

Pro Tag . . . . 3,80 g N, ca. 1000 Cal.
„ Kilogramm Lebendgewicht . . 0,46 „ „ „ 122 „

Tabelle III.

1912	N-Einnahme g	N-Ausgabe im Harn g	Kot g	zus. g	N-Bilanz g	Leb.-Gew. kg	Bemerkungen
27.—28. V.	3,80	3,41	0,60	4,01	— 0,21	8,20	9 Uhr früh Kot abgegrenzt.
28.—29. „	3,80	3,26	0,60	3,86	— 0,06	8,16	
29.—30. „	3,80	3,37	0,60	3,97	— 0,17	8,20	
30.—31. „	3,80	3,42	0,60	4,02	— 0,22	8,19	
31. V.—1. VI.	3,80	3,34	0,60	3,94	— 0,14	8,22	
Mittel pro Tag	3,80	3,36	0,60	3,96	— 0,16	8,19	

Im Mittel entsprechen die Zahlen fast genau denen der vorigen Grundfutterperiode. Eine Nachwirkung auf den Stickstoffumsatz durch das vorher gegebene Ammoniaksalz ist nicht zu bemerken.

4. Periode.

Zum Grundfutter gab ich jetzt eine Zulage von 9,713 g Natriumacetat, die in ihrem Essigsäuregehalt der Ammonacetatzulage entsprach.

Pro Tag . . . . 3,80 g N, 1000 Cal.
" Kilogramm Lebendgewicht . . 0,46 " " 121 "

Tabelle IV.

1912	N-Einnahme g	N-Ausgabe im Harn g	Kot g	zus. g	N-Bilanz g	Leb.-Gew. kg	Bemerkungen
1.—2. VI.	3,80	3,05	0,63	3,68	+ 0,12	8,29	Kot abgegrenzt.
2.—3. "	3,80	3,08	0,63	3,71	+ 0,09	8,19	
3.—4. "	3,80	2,81	0,63	3,44	+ 0,36	8,22	Hat wenig Schleim gebrochen, aber wieder gefressen.
4.—5. "	3,80	2,94	0,63	3,57	+ 0,23	8,33	
5.—6. "	3,80	2,91	0,63	3,54	+ 0,26	8,36	Hat etwas Futter gebrochen, aber wieder gefressen.
Mittel pro Tag	3,80	2,96	0,63	3,59	+ 0,21	0,28	

Die stickstoffeinschränkende Wirkung des Salzes ist unverkennbar. Von 3,36 g ist der Stickstoff im Harn auf 2,96 g herabgegangen. Der Kotstickstoff ist fast unverändert geblieben. Die mittlere tägliche Stickstoffbilanz ist jetzt positiv (+ 0,21 g) geworden. Am 3. Tage zeigt sich die größte Stickstoffeinschränkung. Gegenüber der mittleren Stickstoffbilanz der vorhergehenden Grundfutterperiode berechnet sich für diesen Tag sogar eine Retention von 0,52 g N.

Auch diesmal äußerte das Natriumsalz eine kräftige diuretische Wirkung, die Harnmenge war fast um das 3fache vermehrt. Während die Hündin in diesem Versuche bisher niemals Wasser genommen hatte, soff sie jetzt täglich mehrfach. Ich habe ihr auch während dieser Periode Wasser in den Käfig gestellt, damit sie den durch die Diurese bewirkten Flüssigkeitsverlust nach Möglichkeit ergänzen konnte. Wie aus den Bemerkungen ersichtlich, hatte die Hündin am 3. und 5. Tage nachmittags gebrochen. Da sie aber das Erbrochene wieder vollständig gefressen hatte, kommt diese Störung für den Versuch nicht in Betracht.

5. Periode.

Die Hündin bekam wieder das Grundfutter.

Pro Tag . . . . 3,80 g N, 1000 Cal.
" Kilogramm Lebendgewicht . . 0,45 " " 119 "

Tabelle V.

1912	N-Einnahme g	N-Ausgabe im Harn g	Kot g	zus. g	N-Bilanz g	Leb.-Gew. kg	Bemerkungen
6.— 7. VI.	3,80	2,93	0,62	3,55	+ 0,25	8,40	Kot abgegrenzt.
7.— 8. „	3,80	3,28	0,62	3,90	− 0,10	8,33	
8.— 9. „	3,80	3,10	0,62	3,72	+ 0,08	8,29	
9.—10. „	3,80	2,95	0,62	3,57	+ 0,23	8,36	
10.—11. „	3,80	2,88	0,62	3,50	+ 0,30	8,36	
11.—12. „	3,80	3,02	0,62	3,64	+ 0,16	8,38	
12.—13. „	3,80	3,01	0,62	3,63	+ 0,17	8,43	
13.—14. „	3,80	2,99	0,62	3,61	+ 0,19	8,45	
14.—15. „	3,80	2,91	0,62	3,53	+ 0,27	8,43	
15.—16. „	3,80	2,95	0,62	3,57	+ 0,23	8,51	
Mittel pro Tag	3,80	3,00	0,62	3,62	+ 0,18	8,39	

Trotzdem das Tier nur das Grundfutter erhielt, ist der Stickstoffumsatz fast unverändert geblieben. Es zeigt sich also hier eine Nachwirkung, wie ich sie noch niemals bei einem Salze habe feststellen können. Da der Kotstickstoff fast denselben Wert zeigt und der Harnstickstoff im Mittel pro Tag nur um 0,04 g vermehrt ist, ist die Gesamt-Stickstoffbilanz gegen die Natriumacetatperiode nur um 0,03 g vermindert. Besonders auffällig ist die Stickstoffeinschränkung an einzelnen Tagen, wie z. B. am 5., wo ein Plus von 0,30 g zu konstatieren ist. Nur am 2. Tage ist die Stickstoffausscheidung im Harn etwas vermehrt. Die Zahl entspricht den Werten, wie ich sie in den vorherigen Grundfutterperioden gefunden habe.

Da die Harnmenge wieder auf das normale Maß gesunken war, ist eine diuretische Nachwirkung nicht vorhanden. Das Tier nahm auch nur an den 3 ersten und beiden letzten Tagen der Periode etwas Wasser.

Eine längere Ausdehnung dieser Grundfutterperiode schien mir nicht ratsam, da die Hündin schon relativ lange im Versuch war und eine Änderung des Stickstoffumsatzes, wie aus den Harnstickstoffzahlen ersichtlich, zunächst wohl nicht zu erwarten stand.

6. Periode.

Um zu sehen, ob eine weitere Gabe von Natriumacetat abermals zu wirken vermag, legte ich wieder 9,713 g Natriumacetat dem Grundfutter zu.

Pro Tag . . . . 3,80 g N, ca. 1000 Cal.
„ Kilogramm Lebendgewicht . . 0,44 „ „ „ 117 „

Tabelle VI.

1912	N-Einnahme g	N-Ausgabe im			N-Bilanz g	Leb.-Gew. kg	Bemerkungen
		Harn g	Kot g	zus. g			
16.—17. VI.	3,80	2,60	0,63	3,23	+ 0,57	8,56	Kot abgegrenzt.
17.—18. „	3,80	2,57	0,63	3,20	+ 0,60	8,56	
Mittel pro Tag	3,80	2,59	0,63	3,22	+ 0,58	8,56	

Da das Tier das Futter nicht mehr wie bisher um 12 Uhr mittags sofort aufnahm (an beiden Tagen hatte es erst gegen 4 Uhr nachmittags alles gefressen) und ich ja nur lediglich eine ev. Stickstoffretention feststellen wollte, begnügte ich mich mit einer 2 tägigen Periode. Der Zweck war ja auch vollständig erreicht, denn wie sich aus der Stickstoffausscheidung im Harn ergibt, hat das Salz wieder eine beträchtliche Retention bewirkt. Die Bilanz ist jetzt sogar bis auf 0,58 g N gestiegen. Der Kotstickstoff ist wieder fast unverändert. Auch diesmal war wieder eine Diurese vorhanden.

7. Periode.

Wie immer folgte nun wieder die Grundfuttergabe.

Pro Tag . . . . 3,80 g N, ca. 1000 Cal.
„ Kilogramm Lebendgewicht . . 0,44 „ „ „ 116 „

Tabelle VII.

1912	N-Einnahme g	N-Ausgabe im			N-Bilanz g	Leb.-Gew. kg	Bemerkungen
		Harn g	Kot g	zus. g			
18.—19. VI.	3,80	2,81	0,63	3,44	+ 0,36	8,56	
19.—20. „	3,80	3,01	0,63	3,64	+ 0,16	8,60	
20.—21. „	3,80	3,01	0,63	3,64	+ 0,16	8,61	Wenig Kot im Käfig.
21.—22. „	3,80	2,90	0,63	3,53	+ 0,27	8,64	Kot am 22. früh mit Knochen abgegrenzt.
Mittel pro Tag	3,80	2,93	0,63	3,56	+ 0,24	8,60	

Nach der 2 tägigen Natriumacetatperiode ist diesmal eine Nachwirkung nicht vorhanden. Am 1. Tage ist die Stickstoffausscheidung im Harn noch etwas gegen die früheren Perioden verringert, kehrt aber schon am 2. Tage wieder zur Norm zurück. Von + 0,58 g N ist die Bilanz wieder auf + 0,24 g N gesunken.

Da die 6. Periode nur 2 tägig war, habe ich zu Beginn dieser Periode den Kot nicht abgegrenzt. Die Zahl für Kotstickstoff ist also das Mittel aus den Kotmengen beider Perioden. Ich konnte dies um so mehr tun, da, wie aus diesem Versuche mit Sicherheit hervorgeht, die Natriumacetatgaben auf die Stickstoffausscheidung im Kot ohne Einfluß sind.

Auch in dieser Periode zeigte das Tier weniger Freßlust. Infolgedessen entließ ich die Hündin nach 4 Tagen aus dem Versuch.

Soweit es das Natriumacetat betrifft, ist der vorliegende Versuch eine klare Bestätigung des schon von mir im vergangenen Jahre Mitgeteilten. Das Salz hat unzweifelhaft die Stickstoffausscheidung im Harn ganz beträchtlich herabzusetzen vermocht. Von besonderer Bedeutung dürfte die Tatsache sein, daß die Hündin in der auf die 5 tägigen Natriumacetatgaben folgenden 10 tägigen Futterperiode in ihrem Stickstoffumsatz fast unverändert blieb.

Auffällig ist dagegen, daß das zuerst gegebene Ammonacetat wirkungslos geblieben ist. Dieser Befund mahnt, sofern es sich um Nachprüfung von Versuchen von anderer Seite handelt, zur Vorsicht. Denn, wie ich selbst in zahlreichen Versuchen feststellen konnte, hat Ammonacetat ganz sicher die Fähigkeit, stickstoffeinschränkend zu wirken. Wenn sich das Salz im vorliegenden Falle indifferent verhielt, so vermag ich dafür eine Erklärung vor der Hand nicht zu geben, um so weniger, als nach meiner Meinung die Bedingungen in diesem Versuche derartige waren, daß mit Ammonacetat eine Wirkung erwartet werden mußte.

Versuch 2.

Während ich beim 1. Versuch ungefähr vom Stickstoffgleichgewicht ausgegangen war, die Bilanz ergab — 0,16 g N, gab ich derselben Foxterrierhündin jetzt wieder reichlich Calorien, aber bedeutend weniger Fleisch, um eine negative Stickstoffbilanz zu erzielen. Dem Grundfutter legte ich wieder diesmal erst Natriumacetat, dann Ammonacetat zu, um die Einwirkung beider Salze auch bei stickstoffärmerer Ernährung zu prüfen.

Nachdem die Hündin VI 5 Tage lang gehungert hatte, vom 6. bis 10. Juli 1912, und dabei in ihrem Lebendgewicht von 8,15 kg bis 7,64 kg heruntergegangen war, bekam sie zunächst das Grundfutter folgender Zusammensetzung:

20 g	Pferdefleisch	0,69 g N,	ca. 32 Cal.
80 „	Reis	0,95 „ „	„ 296 „
60 „	Schweineschmalz . . .	—	„ 576 „
2 „	Kochsalz	—	—
		1,64 g N,	ca. 904 Cal.

Am 14. Juli begann der Versuch, nachdem die N-Ausscheidung im Harn nach 3tägiger Grundfuttergabe bereits konstant geworden war.

1. Periode.

Grundfutter . . . . 1,64 g N, ca. 904 Cal.
Pro Kilogramm Lebendgewicht . . 0,21 „ „ „ 116 „

Tabelle VIII.

1912	N-Einnahme g	N-Ausgabe im Harn g	Kot g	zus. g	N-Bilanz g	Leb.-Gew. kg	Bemerkungen
14.—15. VII.	1,64	1,59	0,46	2,05	— 0,41	7,80	Kot mit Kieselsäure abgegrenzt.
15.—16. „	1,64	1,43	0,46	1,89	— 0,25	7,78	
16.—17. „	1,64	1,40	0,46	1,86	— 0,22	7,77	
17.—18. „	1,64	1,46	0,46	1,92	— 0,28	7,74	
18.—19. „	1,64	1,57	0,46	2,03	— 0,39	7,76	
19.—20. „	1,64	1,51	0,46	1,97	— 0,33	7,82	
Mittel pro Tag	1,64	1,49	0,46	1,95	— 0,31	7,77	

Bei der geringen Stickstoffgabe hat sich das Tier trotz ausreichender Calorienmenge nicht ins Stickstoffgleichgewicht einzustellen vermocht. Die Bilanz ist durchweg negativ, im Mittel — 0,31 g N.

Gegen seine Gewohnheit nahm das Tier bei der großen Hitze an einigen Tagen Wasser an.

2. Periode.

Zum Grundfutter kam jetzt eine Zulage von 9,713 g Natriumacetat. Ich habe, wie schon eingangs erwähnt, bei diesem Versuche umgekehrt wie bei Versuch 1 zuerst das Natriumsalz, dann das Ammoniaksalz gegeben.

Pro Tag . . . . 1,64 g N, ca. 904 Cal.
„ Kilogramm Lebendgewicht . . 0,21 „ „ „ 114 „

Tabelle IX.

1912	N-Einnahme g	N-Ausgabe im Harn g	Kot g	zus. g	N-Bilanz g	Leb.-Gew. kg	Bemerkungen
20.—21. VII.	1,64	1,55	0,46	2,01	−0,37	7,81	Kot abgegrenzt.
21.—22. „	1,64	1,41	0,46	1,87	−0,23	7,89	
22.—23. „	1,64	1,28	0,46	1,74	−0,10	7,85	
23.—24. „	1,64	1,35	0,46	1,81	−0,17	7,89	
24.—25. „	1,64	1,26	0,46	1,72	−0,08	7,95	
25.—26. „	1,64	1,30	0,46	1,76	−0,12	7,99	
26.—27. „	1,64	1,29	0,46	1,75	−0,11	8,03	
Mittel pro Tag	1,64	1,30	0,46	1,76	−0,12	7,92	

Mit Ausnahme der beiden ersten Tage läßt sich eine Einschränkung der Stickstoffabgabe im Harn deutlich erkennen. Wie immer war täglich eine kräftige Diurese wahrzunehmen, die auch zur Folge hatte, daß die Hündin viel von dem ihr in den Käfig gestellten Wasser nahm. Die Stickstoffverluste sind im Mittel pro Tag von 0,31 g bis auf 0,12 g gesunken. Das Tier nähert sich also dem Stickstoffgleichgewicht. Bei den reichlichen Caloriengaben hat sich das Lebendgewicht etwas vermehrt.

3. Periode.

Zur Erkennung einer ev. Nachwirkung gab ich das Grundfutter.

Pro Tag . . . . 1,64 g N, ca. 904 Cal.

„ Kilogramm Lebendgewicht . . 0,20 „ „ „ 112 „

Tabelle X.

1912	N-Einnahme g	N-Ausgabe im Harn g	Kot g	zus. g	N-Bilanz g	Leb.-Gew. kg	Bemerkungen
27.—28. VII.	1,64	1,42	0,49	1,91	−0,27	8,06	Kot abgegrenzt.
28.—29. „	1,64	1,31	0,49	1,80	−0,16	8,08	
29.—30. „	1,64	1,48	0,49	1,97	−0,33	7,99	
30.—31. „	1,64	1,62	0,49	2,11	−0,47	8,01	
31. VII.—1. VIII.	1,64	1,56	0,49	2,05	−0,41	8,00	
1.—2. „	1,64	1,37	0,49	1,86	−0,22	8,00	
2.—3. „	1,64	1,42	0,49	1,91	−0,27	8,00	
Mittel pro Tag	1,64	1,45	0,49	1,94	−0,30	8,02	

Eine kräftige Nachwirkung ist diesmal nicht zu bemerken. Wenn auch die Bilanzen z. B. am 2. Tage und auch am vorletzten Tage denen der vorhergehenden Periode ungefähr entsprechen, so werden diese doch durch andere Tage vollständig

kompensiert. Im Mittel ist die Bilanz wieder — 0,30 g N, also fast ebenso wie in der 1. Periode. An Gewicht hat die Hündin weiter zugenommen.

4. Periode.

Nunmehr gab ich die Ammonacetatzulage entsprechend 1 g N.

Pro Tag . . . . 2,64 g N, ca. 904 Cal.
„ Kilogramm Lebendgewicht . . 0,33 „ „ „ 112 „

Tabelle XI.

1912	N-Einnahme g	N-Ausgabe im Harn g	Kot g	zus. g	N-Bilanz g	Leb.-Gew. kg	Bemerkungen
3.—4. VIII.	2,64	2,04	0,46	2,50	+ 0,14	8,07	Kot abgegrenzt.
4.—5. „	2,64	2,30	0,46	2,76	— 0,12	8,10	
5.—6. „	2,64	2,38	0.46	2,84	— 0,20	8,10	
6.—7. „	2,64	2,39	0,46	2,85	— 0,21	8,07	
Mittel pro Tag	2,64	2,28	0,46	2,74	— 0,10	8,09	

Diesmal hat das Ammonacetat im Gegensatz zum Versuch 1, wo es sich als indifferent erwies, eine Einschränkung der Stickstoffausscheidung herbeigeführt. Besonders auffällig ist der 1. Tag, an dem die Bilanz sogar positiv wird. Wie früher wurde auch diesmal eine Diurese nicht beobachtet. Im Mittel hat das Ammonacetat die Stickstoffbilanz ungefähr in gleicher Weise wie Natriumacetat zu beeinflussen vermocht. Auch diesmal hat die Hündin etwas an Gewicht zugenommen.

5. Periode.

Diese wurde wie immer zur Erkennung einer Nachwirkung angeschlossen. Ich gab wieder das Grundfutter.

Pro Tag . . . . 1,64 g N, ca. 904 Cal.
„ Kilogramm Lebendgewicht . . 0,20 „ „ „ 111 „

Tabelle XII.

1912	N-Einnahme g	N-Ausgabe im Harn g	Kot g	zus. g	N-Bilanz g	Leb.-Gew. kg	Bemerkungen
7.— 8. VIII.	1,64	1,47	0,46	1,93	— 0,29	8,11	Kot abgegrenzt.
8.— 9. „	1,64	1,43	0,46	1,89	— 0,25	8,12	
9.—10. „	1,64	1,42	0,46	1,88	— 0,24	8,16	
10.—11. „	1,64	1,50	0,46	1,96	— 0,32	8,15	
11.—12. „	1,64	1,42	0,46	1,88	— 0,24	8,18	Am 12. früh Kot abgegrenzt.
Mittel pro Tag	1,64	1,45	0,46	1,91	— 0,27	8,14	

Eine Nachwirkung der Ammonacetatfütterung ist nicht zu erkennen. Der Stickstoffumsatz (Harn-N-Zahlen) entspricht im Mittel genau dem der 3. Periode. Das Lebendgewicht ist wieder noch etwas angestiegen.

Der Versuch war damit beendet.

Während der 29 Versuchstage war das Tier sehr munter und fraß gut. Es leckte die Futterschüsseln wie immer bis auf die kleinsten Reste aus, bekam also stets sein Futter nebst Beilagen quantitativ.

Wie aus den Tabellen ersichtlich, sind die Werte für Kotstickstoff in allen Perioden, mit Ausnahme der 3., wo er um 0,03 g vermehrt ist, vollständig übereinstimmend. Auf die Stickstoffausscheidung im Kot haben also beide Salze wieder keinen Einfluß gehabt. Die zwar geringe, aber stetige Lebendgewichtszunahme ist wohl nur auf die reichlichen Caloriengaben zurückzuführen. Das Tier hat Fett angesetzt.

Auch dieser Versuch ist wieder eine Bestätigung der bisher stets gefundenen, den Stickstoffumsatz einschränkenden Wirkung des Natriumacetats. Wie schon in zahlreichen früheren Versuchen, wirkte auch in diesem Falle Ammonacetat stickstoffsparend. Beide Salze haben ungefähr den gleichen Einfluß auf den Stickstoffumsatz ausgeübt. Im Gegensatz zum Versuch 1, wo unter der Einwirkung von Natriumacetat, vgl. Tabellen IV und V, in der nachfolgenden Grundfutterperiode der Stickstoffumsatz fast unverändert eine Einschränkung erkennen läßt, ist von einer derartigen Wirkung in diesem Versuche nichts zu bemerken.

Versuch 3.

In meinen bisherigen Versuchen mit Natriumacetat hatte ich bei der Foxterrierhündin VI, die in allen Fällen auf eine negative N-Bilanz eingestellt war, stets Stickstoffretentionen feststellen können. Um nun zu sehen, ob das Natriumsalz auch diese Wirkung äußert, wenn das Tier in jeder Beziehung so reichlich ernährt wird, daß die N-Bilanz positiv ist, stellte ich diesen Versuch 3 an. Vergleichsweise gab ich diesmal außer essigsauren auch citronensaures Natron.

Als Versuchstier diente eine rasselose Hündin V, die ich auch schon früher mehrfach zu Versuchen benutzt hatte.

Nach 4tägiger Hungerzeit vom 15. bis 18. VIII. 1912, wobei das Tier von seinem Lebendgewicht 500 g eingebüßt hatte, gab ich ihm folgendes Grundfutter:

80 g Pferdefleisch . . .	2,74 g N,	ca. 128 Cal.
80 „ Reis	0,95 „ „	„ 296 „
30 „ Schweineschmalz .	—	„ 288 „
2 „ Kochsalz	—	—
	3,69 g N,	ca. 712 Cal.

Nach 4tägiger Fütterung war die Stickstoffausscheidung im Harn wieder so gleichmäßig, daß ich am 23. früh den Versuch beginnen konnte.

1. Periode.

Grundfutter . . . . 3,69 g N, ca. 712 Cal.
Pro Kilogramm Lebendgewicht 0,38 „ „ „ 74 „

Tabelle XIII.

1912	N-Einnahme g	N-Ausgabe im Harn g	N-Ausgabe im Kot g	N-Ausgabe zus. g	N-Bilanz g	Leb.-Gew. kg	Bemerkungen
23.–24. VIII.	3,69	3,17	0,43	3,60	+ 0,09	9,63	Kot abgegrenzt.
24.–25. „	3,69	2,81	0,43	3,24	+ 0,45	9,59	
25.–26. „	3,69	2,96	0,43	3,39	+ 0,30	9,59	
26.–27. „	3,69	3,04	0,43	3,47	+ 0,22	9,58	
27.–28. „	3,69	3,14	0,43	3,57	+ 0,12	9,55	
Mittel pro Tag	3,69	3,02	0,43	3,45	+ 0,24	9,59	

Der reichlichen Fütterung entsprechend ist die Stickstoffbilanz positiv.

2. Periode.

Zum Grundfutter legte ich jetzt zunächst steigende Menge von Natriumcitrat zu.

Pro Tag . . . . 3,69 g N, ca. 712 Cal.
„ Kilogramm Lebendgewicht 0,39 „ „ „ 74 „

Tabelle XIV.

1912	Einahme N g	Einahme Natr.-citrat g	N-Ausgabe im Harn g	N-Ausgabe im Kot g	N-Ausgabe zus. g	N-Bilanz g	Leb.-Gew. kg	Bemerkungen
28.–29. VIII.	3,69	10	2,97	0,36	3,33	+ 0,36	9,52	Kot abgegrenzt.
29.–30. „	3,69	10	3,14	0,36	3,50	+ 0,19	9,61	
30.–31. „	3,69	15	3,15	0,36	3,51	+ 0,18	9,60	
31. VIII. bis 1. IX.	3,69	20	2,94	0,36	3,30	+ 0,39	9,53	
1.–2. IX.	3,69	25	3,21	0,36	3,57	+ 0,12	9,56	
Mittel pro Tag	3,69	16	3,08	0,36	3,44	+ 0,25	9,56	

Aus der mittleren täglichen Gesamt-Stickstoffbilanz läßt sich eine Einwirkung des citronensauren Natrons nicht feststellen. Auch die täglichen Bilanzen zeigen in keinem Falle einen Wert, der auf eine Einschränkung des Stickstoffumsatzes schließen läßt. Eine diuretische Wirkung vermochte das Salz erst bei Gaben von 20 und 25 g zu äußern. Das in den Käfig gestellte Wasser hatte die Hündin bisher unberührt gelassen. Am 4. Tage erst hatte das Tier ungefähr 80 ccm Wasser genommen, am letzten Tage, wo die Diurese am kräftigsten war, hatte es ungefähr 400 ccm Wasser gesoffen.

Der Kotstickstoff ist gegen die vorhergehende Periode wenig verringert.

3. Periode.

Das Tier bekam wieder das Grundfutter.

Pro Tag . . . . 3,69 g N, ca. 712 Cal.
„ Kilogramm Lebendgewicht 0,39 „ „ „ 75 „

Tabelle XV.

1912	N-Einnahme g	N-Ausgabe im Harn g	Kot g	zus. g	N-Bilanz g	Leb.-Gew. kg	Bemerkungen
2.–3. IX.	3,69	3,31	0,35	3,66	+ 0,03	9,61	Kot abgegrenzt.
3.–4. „	3,69	3,13	0,35	3,48	+ 0,21	9,52	
4.–5. „	3,69	—	0,35	—	—	9,47	
5.–6. „	3,69	3,21	0,35	3,56	+ 0,13	9,48	
6.–7. „	3,69	3,26	0,35	3,61	+ 0,08	9,48	
Mittel pro Tag	3,69	3,23	0,35	3,58	+ 0,11	9,51	

Der Stickstoffumsatz ist gegen die Natriumcitratperiode etwas gesteigert. Da die Gesamt-Stickstoffbilanz nur noch + 0,11 g beträgt, hat das Tier einen kleinen Stickstoffverlust von 0,14 g erlitten. Wollte man annehmen, daß die Hündin das Bestreben hatte, sich ins Stickstoffgleichgewicht einzustellen, die Harn-N-Zahlen der 1. Periode würden auch darauf hindeuten, so könnte man dem Natriumcitrat die Wirkung zuschreiben, daß es eine weitere Steigerung des Stickstoffumsatzes hintan gehalten hat. Man könnte aber auch die geringe Steigerung der Werte für den Stickstoff im Harn als eine nicht günstige Nachwirkung des Salzes deuten. Da es sich im ersteren Falle um eine Stickstoffsparung von nur 0,14 g handeln

würde, die dem Natriumcitrat zugeschrieben werden könnten, ist die Frage bedeutungslos.

4. Periode.

Versuchsweise gab ich jetzt eine Zulage von 10 g Natriumacetat zum Grundfutter.

Pro Tag . . . . 3,69 g N, ca. 712 Cal.
„ Kilogramm Lebendgewicht 0,39 „ „ „ 75 „

Tabelle XVI.

1912	N-Einnahme g	N-Ausgabe im Harn g	Kot g	zus. g	N-Bilanz g	Leb.-Gew. kg	Bemerkungen
7.– 8. IX.	3,69	2,91	0,36	3,27	+ 0,42	9,49	Kot abgegrenzt.
8.– 9. „	3,69	2,85	0,36	3,21	+ 0,48	9,55	
9.–10. „	3,69	2,98	0,36	3,34	+ 0,35	9,53	
10.–11. „	3,69	3,00	0,36	3,36	+ 0,33	9,50	
11.–12. „	3,69	3,06	0,36	3,42	+ 0,27	9,52	
Mittel pro Tag	3,69	2,96	0,36	3,32	+ 0,37	9,52	

Die stickstoffsparende Wirkung des Natriumacetats läßt sich auch hier wieder deutlich erkennen. Die Gesamt-Stickstoffbilanz ist bis auf + 0,37 g angestiegen. Im Vergleich mit der vorhergehenden Grundfutterperiode hat also die Hündin unter der Einwirkung des Salzes 0,26 g N weniger ausgeschieden. Die Diurese trat wie immer sofort ein. Das Tier nahm aber nur sehr wenig Wasser auf.

5. Periode.

Zum Schlusse des Versuchs bekam das Tier wieder das Grundfutter.

Pro Tag . . . . 3,69 g N, ca. 712 Cal.
„ Kilogramm Lebendgewicht 0,39 „ „ „ 75 „

Tabelle XVII.

1912	N-Einnahme g	N-Ausgabe im Harn g	Kot g	zus. g	N-Bilanz g	Leb.-Gew. kg	Bemerkungen
12.–13. IX.	3,69	3,12	0,36	3,48	+ 0,21	9,50	Kot mit Kieselsäure abgegrenzt.
13.–14. „	3,69	3,02	0,36	3,38	+ 0,31	9,50	
14.–15. „	3,69	3,22	0,36	3,58	+ 0,11	9,52	
15.–16. „	3,69	3,48	0,36	3,84	– 0,15	9,51	
16.–17. „	3,69	3,13	0,36	3,49	+ 0,20	9,49	
Mittel pro Tag	3,69	3,19	0.36	3,55	+ 0,14	9,50	

Ein Vergleich der täglichen Stickstoffbilanzen läßt erkennen, daß sich der Stickstoffumsatz gesteigert hat. Im Mittel entspricht die Bilanz ungefähr der der 3. Periode. Mit Ausnahme des 2. Tages sind die Werte für den Harnstickstoff erhöht. Auch aus der Nachperiode läßt sich nur schließen, daß das vorher gegebene essigsaure Natron den Stickstoffumsatz eingeschränkt hat.

Mit Ausnahme der 1. Periode sind die Zahlen für den Kotstickstoff in allen Perioden fast übereinstimmend. Bei der vollständig ausreichenden Ernährung hat das Tier sich in seinem Lebendgewicht konstant gehalten.

Auch dieser Versuch bestätigt die bisherigen mit Natriumacetat erhaltenen Befunde. Dagegen hat nach diesem Versuch Natriumcitrat eine deutliche Einwirkung weder in günstiger noch ungünstiger Beziehung erkennen lassen.

Anschließend an diesen Versuch möchte ich noch zwei Tabellen einfügen, die ich früher mit derselben Hündin bekommen habe, und die deshalb von Interesse sind, weil das Natriumacetat hier keine Wirkung gezeigt hatte.

Das Tier bekam ein Grundfutter von der üblichen Zusammensetzung (80 g Pferdefleisch, 80 g Reis, 20 g Schmalz, zusammen 3,80 g N und ca. 616 Cal.).

Grundfutterperiode.

Pro Tag . . . . 3,80 g N, ca. 616 Cal.
„ Kilogramm Lebendgewicht 0,41 „ „ „ 67 „

Tabelle XVIII.

1912	N-Einnahme g	N-Ausgabe im Harn g	Kot g	zus. g	N-Bilanz g	Leb.-Gew. kg	Bemerkungen
20.–21. II.	3,80	3,24	0,40	3,64	+ 0,16	9,20	Kot abgegrenzt.
21.–22. „	3,80	3,27	0,40	3,67	+ 0,13	9,15	
22.–23. „	3,80	3,51	0,40	3,91	– 0,11	9,19	
23.–24. „	3,80	3,22	0,40	3,62	+ 0,18	9,15	
24.–25. „	3,80	3,39	0,40	3,79	+ 0,01	9,18	
Mittel pro Tag	3,80	3,33	0,40	3,73	+ 0,09	9,17	

Das Tier ist ungefähr im Stickstoffgleichgewicht und in seinem Gewichte konstant.

Natriumacetatperiode.

Zum Grundfutter bekam das Tier eine tägliche Zulage von 8 g Natriumacetat.

Pro Tag . . . . 3,80 g N, ca. 616 Cal.
„ Kilogramm Lebendgewicht . . 0,41 „ „ „ 67 „

Tabelle XIX.

1912	N-Einnahme g	N-Ausgabe im Harn g	Kot g	zus. g	N-Bilanz g	Leb.-Gew. kg	Bemerkungen
25.–26. II.	3,80	—	0,40	—	—	9,17	
26.–27. „	3,80	3,25	0,40	3,65	+ 0,15	9,19	
27.–28. „	3,80	3,41	0,40	3,81	– 0,01	9,18	
28.–29. „	3,80	3,18	0,40	3,58	+ 0,22	9,17	
Mittel pro Tag	3,80	3,28	0,40	3,68	+ 0,12	9,18	

Der Kotstickstoff wurde in dieser Periode nicht bestimmt, sondern die Zahl aus der Tabelle XVIII übernommen.

Im Gegensatz zum vorhergehenden Versuche hat also, wie aus den Harnstickstoffzahlen zu ersehen, das Natriumacetat hier keine Wirkung geäußert.

Versuch 4.

Da im vorhergehenden Versuche die Hündin V bei reichlicherer Ernährung (positive N-Bilanz) auf citronensaures Natron keine und auf essigsaures Natron nur eine geringe Einschränkung des Stickstoffumsatzes hatte erkennen lassen, stellte ich zunächst den folgenden Versuch an, um mit der bekannten Foxterrierhündin VI, die ich ins Stickstoffgleichgewicht brachte, nachzuprüfen, ob auch dieses Tier bei ausreichender Ernährung (N-Gleichgewicht) auf Salzgaben geringere oder gar keine Ausschläge zeigen würde.

Diesmal gab ich der Hündin auch milchsaures Ammoniak, da frühere Versuche von mir mit diesem Ammoniaksalz[1]) nicht zu eindeutigen Ergebnissen geführt hatten. Zum Vergleich bekam das Tier dann essigsaures Ammoniak und essigsaures Natron. Schließlich gab ich nochmals essigsaures Natron,

[1]) Vgl. diese Zeitschr. 45, 248 bis 256.

nachdem ich dem Tiere im Grundfutter 20 g Pferdefleisch entzogen hatte, um zu sehen, ob die Hündin jetzt bei negativer Stickstoffbilanz deutlichere Ausschläge zeigen würde.

Nachdem die Foxterrierhündin VI vom 15. bis 19. X. gehungert und dabei in ihrem Lebendgewicht von 8,3 kg auf 7,54 kg gekommen war, gab ich ihr folgendes Grundfutter:

80 g Pferdefleisch . . .	2,86 g N,	ca. 128 Cal.
60 „ Reis	0,71 „ „	„ 222 „
20 „ Schweineschmalz .	—	„ 192 „
2 „ Kochsalz	—	—
	3,57 g N,	ca. 542 Cal.

Am 22. X. begann der Versuch.

1. Periode.

Grundfutter . . . . 3,57 g N, ca. 542 Cal.
Pro Kilogramm Lebendgewicht 0,48 „ „ „ 73 „

Tabelle XX.

1912	N-Einnahme g	N-Ausgabe im Harn g	Kot g	zus. g	N-Bilanz g	Leb.-Gew. kg	Bemerkungen
21.–22. X.	3,57	3,02	0,44	—	—	7,50	Kot abgegrenzt.
22.–23. „	3,57	3,25	0,44	3,69	– 0,12	7,51	
23.–24. „	3,57	3,22	0,44	3,66	– 0,08	7,50	
24.–25. „	3,57	3,07	0,44	3,51	+ 0,06	7,45	
25.–26. „	3,57	2,94	0,44	3,38	+ 0,19	7,45	
26.–27. „	3,57	3,09	0,44	3,53	+ 0,04	7,44	
27.–28. „	3,57	3,15	0,44	3,59	– 0,02	7,37	
28.–29. „	5,57	2,84	0,44	3,28	+ 0,29	7,31	
29.–30. „	3,57	2,96	0,44	3,40	+ 0,17	7,33	
30.–31. „	3,57	2,96	0,44	3,40	+ 0,17	7,32	
Mittel pro Tag	3,57	3,05	0,44	3,49	+ 0,08	7,42	

Nach der mittleren täglichen Stickstoffbilanz (+ 0,08 g) befindet sich das Tier ungefähr im Stickstoffgleichgewicht. Die täglichen Bilanzen zeigen nicht unbeträchtliche Schwankungen, weshalb ich mich veranlaßt sah, die Periode länger auszudehnen.

2. Periode.

Zunächst gab ich also jetzt 1 g N in Form von Ammonlactat zum Grundfutter.

Pro Tag . . . . 4,57 g N, ca. 542 Cal.
„ Kilogramm Lebendgewicht . . . 0,63 „ „ „ 75 „

Tabelle XXI.

1912	N-Einnahme	N-Ausgabe im			N-Bilanz	Leb.-Gew.	Bemerkungen
		Harn	Kot	zus.			
	g	g	g	g	g	kg	
31. X.—1. XI.	4,57	3,79	0,45	4,24	+ 0,33	7,33	Kot abgegrenzt.
1.—2. XI.	4,57	3,96	0,45	4,41	+ 0,16	7,28	
2.—3. „	4,57	3,97	0,45	4,42	+ 0,15	7,24	
3.—4. „	4,57	3,96	0,45	4,41	+ 0,16	7,23	
4.—5. „	4,57	3,97	0,45	4,42	+ 0,15	7,23	
Mittel pro Tag	4,57	3,93	0,45	4,38	+ 0,19	7,26	

Mit Ausnahme des ersten Tages, an dem die Bilanz bis auf + 0,33 g N angestiegen ist, läßt sich eine stickstoffsparende Wirkung des Ammonlactats nicht feststellen. Die täglichen Bilanzen zeigen Zahlen, wie sie sich auch in der vorherigen Grundfutterperiode finden. Im Mittel berechnet sich im Vergleich mit Periode 1 eine Retention von 0,11 g N, die aber wegen ihrer Geringfügigkeit, besonders aber auch in Anbetracht der Schwankungen in der 1. Periode, die die Mittelzahl für die tägliche Bilanz dieser Periode unsicher macht, bedeutungslos ist.

3. Periode.

Das Tier erhielt wieder das Grundfutter.

Pro Tag . . . . 3,57 g N, ca. 542 Cal.
„ Kilogramm Lebendgewicht . . . 0,50 „ „ „ 76 „

Tabelle XXII.

1912	N-Einnahme	N-Ausgabe im			N-Bilanz	Leb.-Gew.	Bemerkungen
		Harn	Kot	zus.			
	g	g	g	g	g	kg	
5.—6. XI.	3,57	2,85	0,47	3,32	+ 0,25	7,24	Kot abgegrenzt.
6.—7. „	3,57	3,00	0,47	3,47	+ 0,10	7,18	
7.—8. „	3,57	2,90	0,47	3,37	+ 0,20	7,17	
8.—9. „	3,57	3,04	0,47	3,51	+ 0,08	7,14	
9.—10. „	3,57	3,11	0,47	3,58	— 0,01	7,13	
Mittel pro Tag	3,57	2,98	0,47	3,45	+ 0,12	7,17	

Die täglichen Stickstoffbilanzen entsprechen denen der ersten Grundfutterperiode. Die mittlere Bilanz beträgt jetzt + 0,12 g N. Eine Nachwirkung des vorher verabreichten Ammoniaksalzes läßt sich nicht ersehen. Auch aus diesen Zahlen

kann eine stickstoffsparende Wirkung für das milchsaure Ammoniak im Vergleich mit denen der 2. Periode nicht berechnet werden.

4. Periode.

Vergleichsweise gab ich jetzt 1 g N in Form von Ammonacetat.
Pro Tag . . . . 4,57 g N, ca. 542 Cal.
„ Kilogramm Lebendgewicht . . . 0,65 „ „ „ 77 „

Tabelle XXIII.

1912	N-Einnahme g	N-Ausgabe im Harn g	Kot g	zus. g	N-Bilanz g	Leb.-Gew. kg	Bemerkungen
10.—11. XI.	4,57	4,12	0,47	4,59	— 0,02	7,11	Kot abgegrenzt.
11.—12. „	4,57	3,31	0,47	3,78	+ 0,79	7,07	
12.—13. „	4,57	4,05	0,47	4,52	+ 0,05	7,04	
13.—14. „	4,57	3,83	0,47	4,30	+ 0,27	7,05	
14.—15. „	4,57	4,02	0,47	4,49	+ 0,08	7,04	
15.—16. „	4,57	4,03	0.47	4,50	+ 0,07	7,01	
Mittel pro Tag	4,57	3,89	0,47	4,36	+ 0,21	7,05	

Auch in diesem Falle hat Ammonacetat keine Wirkung geäußert, mit Ausnahme des 2. Tages. Die auffällig große Retention am 11./12. XI., die Bilanz beträgt + 0,79 g N, legt den Gedanken nahe, daß hier ein Fehler untergelaufen sein könnte. Ich habe deshalb den Harn nochmals auf Stickstoff untersucht, aber wieder das gleiche Ergebnis erhalten. Da Harnverluste nachweislich nicht vorgekommen waren, die Harnmenge auch normal war, muß diese Zahl als einwandfrei gelten. Ich möchte noch an dieser Stelle bemerken, daß die Gefahr, die Tiere könnten von unberufener Seite gefüttert werden, bei den Verhältnissen im hiesigen Institut nicht in Frage kommt. Außerdem halte ich die Käfige stets verschlossen, und da diese mit einem engen Drahtgitter versehen sind, dürfte es kaum möglich sein, den Tieren Futter beizubringen.

Trotz der am 2. Tage gefundenen sehr hohen Zahl beträgt die tägliche mittlere Bilanz nur + 0,21 g N. Eine die Stickstoffausscheidung verringernde Wirkung hat also das Salz innerhalb 6 Tagen in irgendwie nennenswerter Weise nicht ausgeübt.

5. Periode.

Bei einem früheren Versuche war es mir gelungen, dieses Tier von einer stark negativen Bilanz — 0,88 g N durch mehr-

fache Ammonacetatgaben [in einer 5 tägigen Periode mit täglich 1 g N und einer zweiten gleichen Periode mit täglich 2 g N; vgl. diese Zeitschr. **45**, S. 258 bis 260] auf eine Stickstoffbilanz von — 0,27 g einzustellen. Ich entschloß mich deshalb, dem Tiere auch diesmal nochmals Ammonacetat zu geben, um vielleicht jetzt eine deutliche Wirkung zu erzielen.

Pro Tag 6,07 g N (2,5 g N davon Ammonacetat-N) u. ca. 542 Cal.
„ Kilogramm Lebendgewicht . . . . . . 0,87 g N, „ 78 „

Tabelle XXIV.

1912	N-Einnahme g	N-Ausgabe im Harn g	Kot g	zus. g	N-Bilanz g	Leb.-Gew. kg	Bemerkungen
16.—17. XI.	6,07	}5,45	0,46	}5,91	}+0,16	7,01	Kot abgegrenzt.
17.—18. „	6,07		0,46			6,94	
18.—19. „	6,07	5,45	0,46	5,91	+ 0,16	6,98	
19.—20. „	6,07	5,64	0,46	6,10	— 0,03	6,95	
Mittel pro Tag	6,07	5,51	0,46	5,97	+ 0,10	6,97	

Selbst die sehr kräftige Dosis von 2,5 g Ammonacetat-N hat keinen Einfluß auf den Stickstoffumsatz gehabt. Die täglichen Bilanzen zeigen die üblichen Zahlen. Die beiden ersten Tage habe ich vereinigen müssen, weil die Hündin etwas Futter erbrochen hatte, das ich am 17. mittags mit der folgenden Ration gab.

Während ich bisher bei allen meinen Versuchen mit Ammoniaksalzen niemals eine diuretische Wirkung in irgendwie beachtenswerter Weise beachtet habe, konnte ich diesmal am 3. und 4. Tage eine deutliche Vermehrung der Harnmenge feststellen. Immerhin ist die diuretische Wirkung des essigsauren Ammoniaks bedeutend schwächer als die des essigsauren Natrons. Die Hündin nahm auch jetzt noch kein Wasser an. Die beträchtlichen Salzmengen hatten auf das Wohlbefinden des Tieres keinen Einfluß. Es fraß wie bisher gierig und leckte die Futterschale immer wieder aus.

6. Periode.

Zur Feststellung einer Nachwirkung gab ich wieder das Grundfutter.

Pro Tag . . . . 3,57 g N, ca. 542 Cal.
„ Kilogramm Lebendgewicht . . . 0,52 „ „ „ 78 „

Tabelle XXV.

1912	N-Einnahme g	N-Ausgabe im Harn g	Kot g	zus. g	N-Bilanz g	Leb.-Gew. kg	Bemerkungen
20.—21. XI.	3,57	3,34	0,46	3,80	— 0,23	6,99	Kot abgegrenzt.
21.—22. „	3,57	3,19	0,46	3,65	— 0,08	6,96	
22.—23. „	3,57	2,99	0,46	3,45	+ 0,12	6,91	
23.—24. „	3,57	2,91	0,46	3,37	+ 0,20	6,89	
24.—25. „	3,57	2,99	0,46	3,45	+ 0,12	6,88	
25.—26. „	3,57	3,05	0,46	3,52	+ 0,05	6,85	
Mittel pro Tag	3,57	3,08	0,46	3,54	+ 0,03	6,91	

Unzweifelhaft ist die höhere Stickstoffausscheidung im Harn am 1. Tage und etwas schwächer am 2. Tage auf das vorher gegebene Ammonacetat zurückzuführen. Erst vom 3. Tage an kehren die Harn-N-Zahlen zur Norm zurück (vgl. Tab. XX). Am 4. und 6. Tage zeigte sich noch insofern eine Nachwirkung, als die Harnmenge im Vergleich mit den übrigen Tagen deutlich vermehrt war. Die mittlere Stickstoffbilanz, die sich pro Tag für diese Periode berechnet, + 0,03 g, darf mit Rücksicht auf die Nachwirkung natürlich nicht mit den übrigen Perioden in Vergleich gestellt werden. Läßt man die beiden ersten Tage fort, dann berechnet sich aus den letzten 4 Tagen im Mittel eine Bilanz von + 0,12 g N, die denen der anderen Grundfutterperioden entspricht.

7. Periode.

Vergleichsweise gab ich nunmehr auch noch 10 g Natriumacetat zum Grundfutter.

Pro Tag . . . . 3,57 g N, ca. 542 Cal.
„ Kilogramm Lebendgewicht . . . 0,52 „ „ „ 79 „

Tabelle XXVI.

1912	N-Einnahme g	N-Ausgabe im Harn g	Kot g	zus. g	N-Bilanz g	Leb.-Gew. kg	Bemerkungen
26.—27. XI.	3,57	2,66	0,46	3,12	+ 0,45	6,89	Kot abgegrenzt.
27.—28. „	3,57	2,72	0,46	3,18	+ 0,39	6,76	
28.—29. „	3,57	—	0,46	—	—	6,85	
29.—30. „	3,57	2,96	0,46	3,42	+ 0,15	6,89	
30. XI. bis 1. XII.	3,57	2,83	0,46	3,29	+ 0,28	6,85	
1.—2. XII.	3,57	3,09	0,46	3,55	+ 0,02	6,82	
Mittel pro Tag	3,57	2,85	0,46	3,31	+ 0,26	6,84	

Wie immer, wirkte das Salz kräftig diuretisch. Eine deutliche Einschränkung der Stickstoffausscheidung ist nur an den beiden ersten Tagen zu sehen. Leider konnte am 3. Tag der Stickstoff im Harn nicht bestimmt werden, da Verluste eingetreten waren. An den letzten 3 Tagen läßt sich eine Wirkung des Salzes nicht mehr erkennen. Die mittlere tägliche Stickstoffbilanz von + 0,26 g ergibt mit der korrigierten Bilanz der 6. Periode von + 0,12 g N eine kleine Ersparnis von + 0,14 g N. Also auch Natriumacetat hat in diesem Falle kaum zu wirken vermocht.

8. Periode.

Anschließend bekam das Tier das Grundfutter.

Pro Tag . . . . 3,57 g N, ca. 542 Cal.
" Kilogramm Lebendgewicht . . . 0,53 " " " 80 "

Tabelle XXVII.

1912	N-Einnahme g	N-Ausgabe im Harn g	Kot g	zus. g	N-Bilanz g	Leb.-Gew. kg	Bemerkungen
2.—3. XII.	3,57	3,04	0,39	3,43	+ 0,14	6,83	Kot abgegrenzt.
3.—4. "	3,57	3,11	0,39	3,50	+ 0,07	6,75	
4.—5. "	3,57	3,19	0,39	3,58	− 0,01	6,74	
5.—6. "	3,57	3,39	0,39	3,78	− 0,21	6,71	
Mittel pro Tag	3,57	3,18	0,39	3,57	± 0	6,76	

Nach der mittleren täglichen Stickstoffbilanz befindet sich das Tier genau im Stickstoffgleichgewicht. Während in den früheren 7 Perioden die Zahlen für Kotstickstoff fast übereinstimmen, ist in der 8. Periode eine etwas geringere Stickstoffausscheidung im Kot vorhanden, gegen 7. Periode 0,07 g weniger. Die Harn-N-Zahlen steigen an, so daß die Bilanz schließlich wieder negativ wird. An allen 4 Tagen war eine zwar gegen die 7. Periode verringerte, aber doch deutliche Diurese festzustellen. Die lange Dauer des Versuches bestimmte mich, die Periode schon nach 4 Tagen abzubrechen.

Wie ich schon in der Einleitung zu diesem Versuche ausführte, sollte geprüft werden, ob auch die Foxterrierhündin VI bei ausreichender Ernährung (N-Gleichgewicht) auf Salzgaben

geringere oder keine Ausschläge zeigen würde. Tatsächlich hat das Tier wie die Hündin V auf Natriumacetat nur mit einer sehr geringen Einschränkung des Stickstoffumsatzes geantwortet. Ähnlich wie die Hündin V auf Natriumacetat keine Einwirkung zeigte, blieb auch bei Hündin VI Ammonlactat und -acetat, letzteres selbst in Gaben von 2,5 g N pro Tag, wirkungslos.

Da ich bei Tieren, die auf negative Stickstoffbilanz eingestellt waren, mit Salzen die Stickstoffausscheidung herabzusetzen vermochte, versuchte ich, anschließend an die 8. Periode, eine Natriumacetatwirkung zu erhalten, nachdem ich der Hündin im Grundfutter 30 g Pferdefleisch entzogen hatte, unter Ersatz der so auch genommenen Calorien durch 5 g Schweineschmalz.

9. Periode.

Grundfutter weniger 30 g Pferdefleisch + 5 g Schweineschmalz.

Pro Tag . . . . 2,50 g N, ca. 542 Cal.
„ Kilogramm Lebendgewicht . . . 0,38 „ „ „ 81 „

Das Tier bekam also jetzt bei gleicher Caloriengabe 1,09 g N weniger.

Tabelle XXVIII.

1912	N-Einnahme g	N-Ausgabe im Harn g	Kot g	zus. g	N-Bilanz g	Leb.-Gew. kg	Bemerkungen
6.—7. XII.	2,50	2,76	0,33	3,09	−0,59	6,72	Kot abgegrenzt.
7.—8. „	2,50	2,59	0,33	2,92	−0,42	6,68	
8.—9. „	2,50	2,63	0,33	2,96	−0,46	6,65	
9.—10. „	2,50	2,36	0,33	2,96	−0,46	6,63	
10.—11. „	2,50	2,25	0,33	2,58	−0,08	6,63	
11.—12. „	2,50	2,29	0,33	2,62	−0,12	6,62	
Mittel pro Tag	2,50	2,48	0,33	2,81	−0,31	6,66	

Die Stickstoffbilanzen sind durchweg negativ geworden. Nach den Zahlen für die letzten beiden Tage zu schließen, scheint das Tier dem Stickstoffgleichgewicht zuzustreben.

10. Periode.

Zu diesem Grünfutter gab ich noch 10 g Natriumacetat.

Pro Tag . . . . 2,50 g N, ca. 542 Cal.
„ Kilogramm Lebendgewicht . . 0,38 „ „ „ 82 „

Tabelle XXIX.

1912	N-Einnahme g	N-Ausgabe im Harn g	Kot g	zus. g	N-Bilanz g	Leb.-Gew. kg	Bemerkungen
12.—13. XII.	2,50	1,96	0,39	2,35	+ 0,15	6,65	Kot abgegrenzt
13.—14. „	2,50	1,97	0,39	2,36	+ 0,14	6,57	
14.—15. „	2,50	1,99	0,39	2,38	+ 0,12	6,60	
15.—16. „	2,50	2,22	0,39	2,61	− 0,11	6,50	
16.—17. „	2,50	2,01	0,39	2,40	+ 0,10	6,60	
Mittel pro Tag	2,50	2,03	0,39	2,42	+ 0,08	6,58	

Trotzdem der Kotstickstoff gegen die 9. Periode um 0,06 g erhöht ist, ist die Bilanz positiv geworden. Die täglichen Harn-N-Zahlen lassen deutlich die Wirkung des Salzes erkennen. An allen Tagen zeigte sich wieder eine kräftige diuretische Wirkung.

11. Periode.

Zum Schluß bekam das Tier nochmals das Grünfutter.

Pro Tag . . . . 2,50 g N, ca. 542 Cal.
„ Kilogramm Lebendgewicht . . 0,38 „ „ „ 82 „

Tabelle XXX.

1912	N-Einnahme g	N-Ausgabe im Harn g	Kot g	zus. g	N-Bilanz g	Leb.-Gew. kg	Bemerkungen
17.—18. XII.	2,50	2,19	0,33	2,52	− 0,02	6,59	Kot abgegrenzt.
18.—19. „	2,50	2,38	0,33	2,71	− 0,21	6,56	
19.—20. „	2,50	2,28	0,33	2,61	− 0,11	6,52	20. früh Kot abgegrenzt.
Mittel pro Tag	2,50	2,28	0,33	2,61	− 0,11	6,56	

Die N-Bilanz ist sofort wieder negativ geworden. Auch diese Zahlen, mit denen der Natriumacetatperiode in Vergleich gestellt, zeigen, daß das Salz in der vorhergehenden Periode den Stickstoffumsatz eingeschränkt hatte. Da der Versuch bereits 60 Tage dauerte, begnügte ich mich mit dieser nur 3 tägigen Nachperiode.

Ehe ich das Tier aus dem Versuch entließ, gab ich ihm noch an den beiden folgenden Tagen je 10 g Natriumlactat ins Grundfutter.

Am 20./21. XII. schied die Hündin im Harn 2,18 und am 21./22. XII. 2,14 g N aus. Gegen die beiden letzten Tage de 11. Periode, die etwas geringere Stickstoffausscheidung am ersten Tage (17./18.), ist wohl noch auf das tags vorher gegebene Natriumacetat zurückzuführen, würde auch Natriumlactat den Stickstoffumsatz etwas eingeschränkt haben. Da es sich aber nur um 2 Tage handelt und die Wirkung verhältnismäßig gering ist, läßt sich nur sagen, daß das Lactat wahrscheinlich nur eine dem Acetat analoge Wirkung hat.

Wie aus den Tabellen XVIII bis XXVIII zu ersehen ist, hat das Tier an Gewicht ständig verloren. Während der 60 Versuchstage fast 1 kg. Ein Teil dieses Verlustes ist zweifellos auf Verarmung an Wasser zurückzuführen; das Tier hat während der Salzperioden die durch Diurese verursachten Flüssigkeitsverluste durch Wasseraufnahme nicht vollständig gedeckt. Hauptsächlich aber hat das Tier von seinem Lebendgewicht so viel eingebüßt, weil es relativ zu wenig Calorien bekam, denn, wie aus früheren Versuchen bekannt, gebraucht dieses Tier unverhältnismäßig viel Calorien.

Am Schlusse dieses recht langen Versuchs war die Hündin, trotzdem sie sehr abgemagert war, dennoch außerordentlich munter. Sie fraß vorzüglich und zeigte in keiner Weise, daß sie durch die Salzgaben oder durch die Länge des Versuchs in ihrem Gesundheitszustande irgendwie gelitten hatte.

Dieser 4. Versuch hat also ergeben, daß wie im 3. Versuch die Wirkung des Natriumacetats bedeutend abgeschwächt ist, wenn sich das Versuchstier im Stickstoffgleichgewicht befindet, resp. die N-Bilanz positiv ist. Ammonacetat, gerade das Salz, das bisher besonders geeignet war, um Stickstoffretentionen zu erzielen, erwies sich in diesem Falle fast als wirkungslos (vgl. dazu auch die Tabellen I und II, wo das Salz bei schwach negativer N-Bilanz sich gleichfalls als indifferent erwies). Daß der Stickstoffumsatz eines Tieres, wie ihn der Stickstoffgehalt des Harnes zeigt, von ausschlaggebender Bedeutung für die Wirkung der Salze sein kann, beweisen die Zahlen, die ich mit demselben Tiere früher gefunden habe (vgl. diese Zeitschr. **45**, 257 bis 260). Von einer N-Bilanz von — 0,88 g konnte ich dieselbe Hündin VI mit 1 g N als Ammonacetat auf — 0,57 g und in einer späteren Periode mit noch-

mals 1 kg N des Salzes auf — 0,27 g bringen. Das Tier war also unter der Einwirkung des Ammoniaksalzes dem Stickstoffgleichgewicht nahe gekommen.

Auch die letzten drei Perioden dieses 4. Versuchs zeigen ähnliches für das Natriumacetat. Nachdem das Tier weniger Fleischstickstoff bekam und die Stickstoffbilanz negativ geworden war, reagierte die Hündin jetzt auf Natriumacetat mit einer deutlich erkennbaren Einschränkung des Stickstoffumsatzes. Da aber, wie Versuch 1 zeigt (vgl. die Tabellen IV, V und VI), die Hündin VI fast im Stickstoffgleichgewicht (Bilanz — 0,16 g) mit Natriumacetat den Stickstoffumsatz soweit herabzusetzen vermochte, daß die N-Bilanz auf + 0,21 g anstieg und, sich auf dieser Höhe ungefähr haltend, bei nochmaliger Salzgabe sogar + 0,58 g wurde, so scheinen hier noch andere Faktoren in Betracht zu kommen, die für die Wirkung des Salzes ausschlaggebend sind.

Versuch 5.

Bisher hatte ich mit essigsaurem Natron beträchtliche Einwirkungen auf den Stickstoffumsatz nur bei der Foxterrierhündin VI feststellen können. Die Hündin V hatte im Versuch 3, auf schwach positive Stickstoffbilanz eingestellt, auf dieses Salz nur eine sehr geringe Wirkung erkennen lassen. Ich stellte deshalb diesen Versuch noch einmal an, um auch mit der Hündin V bei negativer N-Bilanz mit Hilfe von Natriumacetat Stickstoffgleichgewicht, ja, wenn möglich, eine positive Bilanz zu erzielen.

Die Hündin V hungerte zunächst vom 11. bis 13. XI. 1912. Am 14. bekam sie folgendes Grundfutter:

50 g Pferdefleisch . .	1,79 g N,	ca.	80 Cal.
50 „ Reis	0,60 „	„ „	185 „
30 „ Schweineschwanz	—	„	288 „
2 „ Kochsalz	—		—
	2,39 g N,	ca.	553 Cal.

Am 18. früh begann der Versuch, nachdem die Hündin an den letzten drei Tagen 2,72, 2,74 und 2,73 g N ausgeschieden hatte.

1. Periode.

Grundfutter . . . . 2,39 g N, ca. 553 Cal.
Pro Kilogramm Lebendgewicht . . 0,26 g „ „ 61 „

Tabelle XXXI.

1912	N-Einnahme g	N-Ausgabe im Harn g	Kot g	zus. g	N-Bilanz g	Leb.-Gew. kg	Bemerkungen
18.—19. XI.	2,39	2,74	0,31	3,05	— 0,66	9,16	Kot abgegrenzt.
19.—20. „	2,39	2,72	0,31	3,03	— 0,64	9,08	
20.—21. „	2,39	2,82	0,31	3,13	— 0,74	9,00	
21.—22. „	2,39	2,65	0,31	2,96	— 0,57	8,94	
22.—23. „	2,39	2,74	0,31	3,05	— 0,66	8,94	Kot nicht abgesetzt vor dem Wiegen.
23.—24. „	2,39	2,59	0,31	2,90	— 0,51	8,92	
Mittel pro Tag	2,39	2,71	0,31	3,02	— 0,63	9,07	

Entsprechend den geringen Gaben an Stickstoff und Calorien ist das Tier nicht ins Stickstoffgleichgewicht gekommen. Die mittlere tägliche N-Bilanz beträgt — 0,63 g.

2. Periode.

Das Tier bekam ins Grundfutter 10 g Natriumacetat.

Pro Tag . . . . 2,39 g N, ca. 553 Cal.
„ Kilogramm Lebendgewicht . . 0,27 „ „ „ 63 „

Tabelle XXXII.

1912	N-Einnahme g	N-Ausgabe im Harn g	Kot g	zus. g	N-Bilanz g	Leb.-Gew. kg	Bemerkungen
24.—25. XI.	2,39	2,27	0,32	2,59	— 0,20	8,87	Kot abgegrenzt.
25.—26. „	2,39	(2,53)	0,32	2,85	— 0,46	8,87	
26.—27. „	2,39	2,36	0,32	2,68	— 0,29	8,84	
27.—28. „	2,39	2,31	0,32	2,63	— 0,24	8,78	
28.—29. „	2,39	—	0,32	—	—	8,77	
29.—30. „	2,39	2,24	0,32	2,56	— 0,17	8,71	
30. XI.—1. XII.	2,39	2,30	0,32	2,62	— 0,23	8,64	
Mittel pro Tag	2,39	2,34	0,32	2,66	— 0,27	8,78	

Bei fast unveränderter Stickstoffausscheidung im Kot ist eine deutliche Herabsetzung der Stickstoffabgabe im Harn täglich zu erkennen, mit Ausnahme des zweiten Tages, an dem die Harn-N-Zahl höher ausfiel. Wie immer, bewirkte auch hier das Salz eine Diurese, die an einigen Tagen schwächer, an anderen wieder stärker war. Da die Stickstoffbilanz jetzt — 0,27 g beträgt, hat das Tier unter der Einwirkung des Salzes im Mittel pro Tag 0,36 g im Körper zurückbehalten.

3. Periode.

Zur Erkennung einer Nachwirkung des Salzes gab ich, wie immer, zunächst wieder das Grundfutter.

Pro Tag . . . . 2,39 g N, ca. 553 Cal.
„ Kilogramm Lebendgewicht . . 0,28 „ „ „ 65 „

Tabelle XXXIII.

1912	N-Einnahme g	N-Ausgabe im Harn g	Kot g	zus. g	N-Bilanz g	Leb.-Gew. kg	Bemerkungen
1.—2. XII.	2,39	2,31	0,29	2,60	− 0,21	8,65	Kot abgegrenzt.
2.—3. „	2,39	2,44	0,29	2,73	− 0,34	8,62	
3.—4. „	2,39	2,29	0,29	2,58	− 0,19	8,53	
4.—5. „	2,39	2,31	0,29	2,60	− 0,21	8,57	Kot nicht abgesetzt vor der Wägung.
5.—6. „	2,39	2,26	0,29	2,55	− 0,16	8,55	
6.—7. „	2,39	2,19	0,29	2,48	− 0,09	8,51	
Mittel pro Tag	2,39	2,30	0,29	2,59	− 0,20	8,57	

Gerade wie die Foxterrierhündin VI im Versuch 1 (vgl. Tabellen IV und V) ist auch die Hündin V in ihrem Stickstoffumsatz gegenüber der vorangehenden Natriumacetatperiode fast unverändert geblieben. Die Stickstoffbilanz ist nur um 0,07 g im Mittel pro Tag von der vorigen verschieden. Der Kotstickstoff beträgt nur noch 0,29 g N pro Tag, also jetzt 0,03 weniger. Es ist demnach eine kräftige Nachwirkung des Salzes zu konstatieren.

4. Periode.

Ich gab abermals 10 g Natriumacetat ins Grundfutter.

Pro Tag . . . . 2,39 g N, ca. 553 Cal.
„ Kilogramm Lebendgewicht . . 0,28 „ „ „ 65 „

Tabelle XXXIV.

1912	N-Einnahme g	N-Ausgabe im Harn g	Kot g	zus. g	N-Bilanz g	Leb.-Gew. kg	Bemerkungen
7.— 8. XII.	2,39	1,90	0,28	2,18	+ 0,21	8,54	Kot abgegrenzt.
8.— 9. „	2,39	2,07	0,28	2,35	+ 0,04	8,50	
9.—10. „	2,39	2,27	0,28	2,55	− 0,16	8,54	
10.—11. „	2,39	1,94	0.28	2,22	+ 0,17	8,46	
11.—12. „	2,39	2,00	0,28	2,28	+ 0,11	8,47	
Mittel pro Tag	2,39	2,04	0,28	2,32	+ 0,07	8,50	

Mit Ausnahme des dritten Tages ist die Stickstoffbilanz jetzt wirklich positiv geworden. Das Natriumsalz hat also wieder deutlich gewirkt. Wie in der 2. Periode, so zeigte sich auch hier wieder eine an den einzelnen Tagen verschieden starke Diurese.

Eine Nachperiode schloß sich diesmal nicht an, da der Zweck des Versuchs vollständig erreicht war. Das Tier hat (s. die Spalte für das Lebendgewicht in den Tabellen) fast

700 g während des kurzen Versuches verloren. Dieser Verlust entspricht der vermehrten Wasserabgabe während der Salzperioden, sowie der ungenügenden Ernährung.

Dieser 5. Versuch scheint die Auffassung zu bestätigen, daß auch für die Wirkung des essigsauren Natrons der Stickstoffumsatz ausschlaggebend ist. Denn während dieses Tier bei positiver Bilanz auf das Salz fast indifferent reagierte, vermochte es bei einer negativen Bilanz von — 0,63 g durch mehrfache Gaben des Salzes die Stickstoffabgabe im Harn so weit herabzusetzen, daß die Bilanz sogar positiv wurde. Als Hauptergebnis ist auch hier wieder die kräftige stickstoffsparende Wirkung das Natriumacetat festzustellen.

Bekanntlich zeigen unter den Salzen das Natrium und Calcium ganz besonders eine antagonistische Wirkung. Wenn es sich nun beim Natriumacetat um eine Wirkung des Alkalis, also des Natriums handeln sollte, und diese durch Calciumsalze aufgehoben werden könnte, dann dürfte der Beweis dafür erbracht sein. Ich versuchte deshalb in einer an die 4. anschließenden 5. Periode die stickstoffsparende Wirkung des essigsauren Natrons durch Beigaben von Chlorcalcium zu beeinflussen.

5. Periode.

Die Hündin bekam weiter das Grundfutter mit 10 g essigsaurem Natron.
Pro Tag . . . . 2,39 g N, ca. 553 Cal.
" Kilogramm Lebendgewicht . . 0,29 " " " 66 "

Tabelle XXXV.

1912	N-Einnahme g	N-Ausgabe im Harn g	Differenz g	Leb.-Gew. g	Bemerkungen
12.—13. XII.	2,39	2,11	+ 0,28	8,47	4 g $CaCl_2$ gegeben.
13.—14. "	2,39	2,13	+ 0,26	8,41	do.
14.—15. "	2,39	2,03	+ 0,36	8,38	do.
15.—16. "	2,39	—	—	8,35	6 g $CaCl_2$ gegeben. Futter erbrochen.
16.—17. "	2,39	2,39	± 0,00	8,30	Grundfutter gegeben.
17.—18. "	2,39	2,45	— 0,06	8,25	do.
18.—19. "	2,39	2,42	— 0,03	8,27	do.
29.—20. "	2,39	1,98	+ 0,41	8,25	5g Magnesiumacetat gegeben.
10.—21. "	2.39	1,98	+ 0,41	8,34	10 g Magnesiumacetat gegeben. Diarrhöe.
21.—22. "	2,39	2,44	— 0,05	8,27	Grundfutter gegeben.
22.—23. "	2,39	2,31	+ 0,08	8,28	5g Magnesiumacetat gegeben.
Mittel pro Tag	2,39	2,22	+ 0,17	8,32	

Am 12./13., 13./14., 14./15. XII. gab ich zunächst dem Tiere pro Tag 4 g Chlorcalcium ($CaCl_2 + 6aq.$) noch neben dem Natriumacetat ins Futter. Eine Wirkung ist aus den Harn-N-Zahlen nicht zu ersehen. Am 15./16. gab ich 6 g Chlorcalcium. Diese Gabe vertrug das Tier leider nicht. Es erbrach das Futter, so daß ich an diesem Tage den Stickstoffumsatz nicht bestimmen konnte. Ich gab deshalb zunächst wieder nur das Grundfutter. Nach 3 Tagen legte ich dem Futter essigsaures Magnesium zu, um auch dieses Salz zu prüfen. Am 19./20. bekam das Tier 5 g, am 20./21. 10 g essigsaures Magnesium. Die Stickstoffausscheidung im Harn ist an beiden Tagen gleich. Im Vergleich mit den Harn-N-Zahlen der vorhergehenden 3 Grundfuttertage hat das Tier auf das Magnesiumacetat mit einer ganz deutlichen Einschränkung des Stickstoffumsatzes geantwortet. Auch die sofort erhöhte Stickstoffzahl für den Harn am 21./22. bei bloßer Grundfuttergabe zeigt, daß das Salz gewirkt hat. Das Magnesiumacetat hatte aber auch eine sehr unangenehme Nebenwirkung. Am 21. früh war der auf der Tretbahn abgesetzte Kot vollständig diarrhöeisch, so daß die Tags zuvor gegebene Abgrenzung verwischt war. Die Diarrhöe hielt auch die folgenden Tage an. Am letzten Tage, 22./23., bekam die Hündin nochmals 5 g Magnesiumacetat ins Futter. Diesmal ist eine Stickstoffsparung aus dem Harnstickstoff nicht erkennbar. Auf die Bestimmung des Kotstickstoffs mußte ich verzichten, da das Tier Diarrhöe hatte und eine Abgrenzung nicht möglich war.

Damit war dieser Versuch beendet. Leider hatte bei diesem Tiere die Salzfütterung eine schwere Nierenerkrankung zur Folge. Als ich nach 10 Tagen von einer Reise zurückkehrte, fand ich die Hündin krank vor. Sie nahm keine Nahrung mehr auf, weder Milch noch rohes Rindfleisch, und litt unter starker Diarrhöe und Erbrechen. Äußerlich zeigte das Tier die Symptome der Nephritis. Der Harn war eiweißhaltig. Am folgenden Tage, 4. I. 1913, hatte sich der Zustand noch mehr verschlimmert. Das Tier litt unter Schmerzen und zeigte auch krampfartige Erscheinungen. Eine Behandlung erschien mir in diesem Stadium aussichtslos. Ich habe es deshalb mit Morphium getötet. Die Sektion ergab als Krankheitsursache hämorrhagische Nephritis.

Ob nun die verschiedenen Gaben von Calcium, Magnesium und Natrium besonders schädlich gewesen sind, muß ich dahingestellt sein lassen. Ich habe jedenfalls früher weder bei dieser Hündin, noch bei der Foxterrierhündin nach Natriumacetat allein irgendwelche Krankheitserscheinungen wahrnehmen können.

Im Anschluß an die ersten Tage dieser 5. Periode, an denen ich neben essigsaurem Natron auch Chlorcalcium gab, möchte ich hier noch einige Zahlen mitteilen, die ich früher mit der Hündin VI erhalten hatte.

Das Grundfutter war auch hier wie gewöhnlich aus Pferdefleisch, Reis und Schmalz mit etwas Kochsalz zusammengesetzt.

Vom 17. bis 21. II. hatte die Hündin das Grundfutter erhalten.

Pro Tag . . . . 3,65 g N, ca. 1000 Cal.
„ Kilogramm Lebendgewicht . . 0,44 „ „ „ 120 „

Im Mittel hat sie 3,27 g N im Harn (3,44 g höchster, 3,17 g niedrigster Wert) und 0,61 g N im Kot ausgeschieden. Die N-Bilanz ergab — 0,23 g N.

Nunmehr bekam das Tier zunächst Natriumacetat, und schließlich Natriumacetat + Chlorcalcium zugelegt.

Tabelle XXXVI.

1912	N-Einnahme g	N-Ausgabe im Harn g	Kot g	zus. g	N-Bilanz g	Leb.-Gew. kg	Bemerkungen
22.—23. II.	3,65	2,88	0,87	3,75	— 0,10	8,21	6 g Natriumacetat.
23.—24. „	3,65	3,04	0,87	3,91	— 0,26	8,21	6 „ „
24.—25. „	3,65	2,98	0,87	3,85	— 0,20	8,25	6 „ „
25.—26. „	3,65	3,10	0,87	3,97	— 0,32	8,30	8 „ „
26.—27. „	3,65	3,01	0,87	3,88	— 0,23	8,35	8 „ „
27.—28. „	3,65	3,10	0,87	3,97	— 0,32	8,30	8 „ + 100 ccm aq.
28.—29. „	3,65	2,82	0,87	3,69	— 0,04	8,30	10 „ Natriumacetat.
29. II.—1. III.	3,65	2,94	0,87	3,81	— 0,16	8,39	4 „ + 2 g $CaCl_2$ + 6 aq.
1.—2. III.	3,65	3,14	0,87	4,01	— 0,36	8,40	4 „ + 4 „ „ + „
Mittel pro Tag	3,65	3,00	0,87	3,87	— 0,22	8,30	

Wie die Tabelle XXXVI zeigt, hatte das essigsaure Natron sofort wieder eine zum Teil beträchtliche Einschränkung der Stickstoffausscheidung im Harn zur Folge. Aber auch hier hatten die an den beiden letzten Tagen neben täglich 10 g Natriumacetat verabreichten Gaben von 2 und 4 g wasserhaltigen Chlorcalciums keinen deutlich erkennbaren Einfluß auf den N-Umsatz. Wenn ich diese Tabelle hier noch besonders an-

führe, so geschieht dies auch, um zu zeigen, daß das essigsaure Natron schon in geringeren Mengen als ungefähr 10 g wirkt.

Der Kotstickstoff ist gegen die vorhergehende Grundfutterperiode um 0,26 g erhöht. Dieses ist darauf zurückzuführen, daß die Hündin vorher Calciumacetat bekommen hatte. Die oben mitgeteilten Zahlen schließen sich nämlich an einen früheren Versuch mit essigsaurem Kalk von mir an; l. c. S. 276. Wahrscheinlich hat der Kalk noch nachträglich die höhere N-Zahl für den Kot bewirkt. Das Tier hat auch während dieser Versuchsreihe sehr reichlich Kot abgesetzt.

Versuch 6.

Die vorstehenden Versuche haben gezeigt, daß Natriumacetat ähnlich wie Ammonacetat stickstoffsparend zu wirken vermag. Da ich bei einem früheren Versuche gefunden hatte, daß Ammontartrat im Gegensatze zum Ammonacetat eine für den Stickstoffbestand des Körpers schädigende Wirkung äußerte, stellte ich diesen Versuch 6 an, um auch die Wirkung verschiedener an organische Säuren gebundene Salze zu prüfen.

Ich habe folgende Salze verfüttert: Natriumcitrat, Natriumlactat, Natriumtartrat, und schließlich auch noch Chlornatrium.

Durch die traurige Erfahrung mit der Hündin V vorsichtig gemacht, beschloß ich, die verschiedenen Salze zwischen Grundfutterperioden nur je an einem Tage zu verfüttern. Ich sah mich zu dieser Maßnahme auch noch besonders deshalb veranlaßt, weil ich zu diesem Versuche wieder mein wertvollstes Tier, die Foxterrierhündin VI, verwendete, die ich nach Möglichkeit schonen wollte, da ich mit dieser Hündin noch verschiedene Versuche durchzuführen die Absicht habe.

Nach 2 Hungertagen, 3. und 4. II. 1913 (Gewicht an beiden Tagen 7,92 kg und 7,58 kg), bekam das Tier wieder ein Grundfutter von folgender Zusammensetzung:

50 g Pferdefleisch . . .	1,79 g N,	ca. 80 Cal.
60 „ Reis	0,71 „ „	„ 222 „
25 „ Schweineschmalz .	—	„ 240 „
2 „ Kochsalz	—	—
	2,50 g N,	ca. 542 Cal.

Am 8. II. früh begann der Versuch.

1. Periode.

Grundfutter	2,50 g N,	ca. 542 Cal.
Pro Kilogramm Lebendgewicht . .	0,34 „ „	„ 75 „

Tabelle XXXVII.

1913	N-Einnahme g	N-Ausgabe im Harn g	Kot g	zus. g	N-Bilanz g	Leb.-Gew. kg	Bemerkungen
8.— 9. II.	2,50	—	0,40	—	—	7,35	Kot abgegrenzt.
9.—10. „	2,50	2,80	0,40	3,20	— 0,70	7,26	
10.—11. „	2,50	2,81	0,40	3,21	— 0,71	7,23	
11.—12. „	2,50	2,70	0,40	3,10	— 0,60	7,20	
Mittel pro Tag	2,50	2,77	0,40	3,17	— 0,67	7,26	
Am 12./13. II. gab ich 7 g Natriumcitrat ins Grundfutter.							
12.—13. II.	2,50	2,39	0,42	2,81	— 0,31	7,16	Kot abgegrenzt.

Die Natriumcitratgabe hat sofort die Stickstoffabgabe im Harn von 2,77 g im Mittel auf 2,39 g herabgedrückt. Im Versuch 3 (vgl. Tabelle XIV) hatte ich bekanntlich mit diesem Salz bei der Hündin V (N-Bilanz + 0,24 g) keine Wirkung erzielen können. In diesem Falle aber hat das citronensaure Natron den Stickstoffverlust um 0,36 g einzuschränken vermocht.

2. Periode.

Das Tier bekam sofort wieder das Grundfutter.

Pro Tag . . . . 2,50 g N, ca. 542 Cal.
„ Kilogramm Lebendgewicht . . 0,36 „ „ „ 77 „

Tabelle XXXVIII.

1913	N-Einnahme g	N-Ausgabe im Harn g	Kot g	zus. g	N-Bilanz g	Leb.-Gew. kg	Bemerkungen
13.—14. II.	2,50	2,65	0,42	3,07	— 0,57	7,03	
14.—15. „	2,50	2,65	0,42	3,07	— 0,57	7,06	
15.—16. „	2,50	2,48	0,42	2,90	— 0,40	7,02	
16.—17. „	2,50	2,53	0,42	2,95	— 0,45	6,98	
Mittel pro Tag	2,50	2,58	0,42	3,00	— 0,50	7,02	
Am 17./18. II. bekam die Hündin 10 g Natriumlactat ins Grundfutter.							
17.—18. II.	2,50	2,26	0,42	2,68	— 0,18	6,94	

Die Stickstoffausscheidung im Harn steigt sofort am folgenden Tage, 13./14., nach dem Natriumcitrattage wieder an, so daß die Bilanz im Mittel der 4 Tage — 0,50 g beträgt. Die einmalige Natriumlactatgabe hat zur Folge, daß der Harnstickstoff an diesem Tage nur noch 2,26 g beträgt und die Bilanz

auf — 0,18 herabgeht. Also auch das milchsaure Salz hat wie das citronensaure sofort eine günstige Wirkung auf die Stickstoffabgabe ausgeübt.

3. Periode.

Am folgenden Tage gab ich wieder das Grundfutter.

Pro Tag . . . . 2,50 g N, ca. 542 Cal.
„ Kilogramm Körpergewicht . . 0,37 „ „ „ 80 „

Tabelle XXXIX.

1913	N-Einnahme g	N-Ausgabe im Harn g	Kot g	zus. g	N-Bilanz g	Leb.-Gew. kg	Bemerkungen
18.—19. II.	2,50	2,49	0,41	2,91	−0,41	6,86	Kot abgegrenzt.
19.—20. „	2,50	2,35	0,41	2,75	−0,25	6,85	
20.—21. „	2,50	2,35	0,41	2,76	−0,26	6,83	
21.—22. „	2,50	2,22	0,41	2,63	−0,13	6,79	
22.—23. „	2,50	2,41	0,41	2,82	−0,32	6,75	
23.—24. „	2,50	2,43	0,41	2,84	−0,34	6,72	
24.—25. „	2,50	2,32	0,41	2,73	−0,23	6,68	
Mittel pro Tag	2,50	2,37	0,41	2,78	— 0,28	6,78	
Am 25./26. gab ich 5 g, am 26./27. 10 g Natriumtartrat ins Grundfutter.							
25.—26. II.	2,50	2,38	0,42	2,80	— 0,30	6,69	Kot abgegrenzt.
26.—27. „	2,50	2,14	0,42	2,56	— 0,06	6,61	

Auch nach dem Natriumlactattage (17./18.) ist der Harnstickstoff wieder vermehrt. Im allgemeinen lassen die Zahlen der Tabelle XXXIX erkennen, daß das Tier dem Stickstoffgleichgewicht zustrebt. Ob die Salzgaben insofern förderlich gewesen sind, läßt sich nicht mit Bestimmtheit sagen. Sicher ist, daß an dem auf die Salzgabe folgenden Tage zwar ein Ansteigen des Stickstoffgehaltes des Harns in jedem Falle bisher zu konstatieren ist, aber nie bis zu der in der vorhergehenden Grundfutterperiode erreichten Höhe.

Die am 25./26. II. gegebenen 5 g Natriumtartrat sind ohne Einfluß auf den Stickstoffumsatz gewesen. Ich gab deshalb am folgenden Tage die doppelte Menge, die sofort eine Einschränkung des Harnstickstoffs um 0,24 g zur Folge hatte. Wie die beiden anderen Natriumsalze, das Citrat und Lactat, so bewirkte auch das Tartrat eine Diurese, die aber wesentlich schwächer war. Die doppelte Gabe von 10 g Tartrat ließ sogar insofern eine noch schwächere Wirkung erkennen als die tags vorher gegebenen 5 g des Salzes.

4. Periode.

Das Tier bekam wieder das Grundfutter.

Pro Tag . . . . 2,50 g N, ca. 542 Cal.
" Kilogramm Lebendgewicht . . 0,38 " " " 83 "

Tabelle XL.

1913	N-Einnahme g	N-Ausgabe im Harn g	Kot g	zus. g	N-Bilanz g	Leb.-Gew. kg	Bemerkungen
27.—28. II.	2,50	2,43	0,42	2,85	– 0,35	6,64	
28. II.—1. III.	2,50	2,80	0,42	3,22	– 0,72	6,65	
1.—2. III.	2,50	2,61	0,42	3,03	– 0,53	6,56	
2.—3. "	2,50	2,52	0,42	2,94	– 0,44	6,49	
3.—4. "	2,50	2,35	0,42	2,77	– 0,27	6,42	
4.—5. "	2,50	2,27	0,42	2,69	– 0,19	6,42	
Mittel pro Tag	2,50	2,50	0,42	2,92	– 0,42	6,53	

Schließlich gab ich der Hündin noch am 5./6. eine Zulage von 8 g Kochsalz ins Grundfutter.

5.—6. III.	2,50	2,31	0,49	2,80	– 0,30	6,42	Kot abgegrenzt.

Während am 27./28. II. der Harnstickstoff mit 2,43 g wieder zu der den Werten der 3. Periode entsprechenden Höhe angestiegen ist, zeigt sich am folgenden Tage (Harnstickstoff 2,80 g) eine auffallend hohe Zahl, wie ich sie nur am Beginn des Versuches gefunden habe. An den folgenden Tagen ist ein von Tag zu Tag abnehmender Stickstoffverlust im Harn zu erkennen. Durch die hohe Zahl am 28. II./1. III. ist die mittlere Stickstoffbilanz pro Tag mit — 0,42 g etwas erhöht. Wenn man die vom 2. bis 4. Tage der 4. Periode gegen Periode 3 durchweg höhere Stickstoffabgabe im Harn dem Natriumtartrat zur Last legen wollte, so wäre diese nachteilige Wirkung jedenfalls nur von geringer Dauer, denn am 3./4. und 4./5. kehren die Werte für Harnstickstoff wieder zur Norm zurück. Während sich für das Natriumcitrat und -lactat keinerlei nachteilige Wirkungen, im Gegenteil nur vorteilhafte aus den Zahlen schließen lassen, muß für das Tartrat gesagt werden, daß es zwar eine Einschränkung der Stickstoffausscheidung im Harn an einem Tage deutlich bewirkt hat, die aber nicht hinreicht, um den an den folgenden Grundfuttertagen anscheinend durch das Natriumtartrat verursachten Stickstoffverlust zu decken. Am 5./6. bekam das Tier, wie angegeben, 8 g Kochsalz. Da es im täg-

lichen Futter schon 2 g erhielt, betrug die gesamte Kochsalzgabe also 10 g. Im Vergleich mit den beiden letzten Tagen (s. Tabelle XL) ist das Salz ohne Einfluß auf den Stickstoffumsatz geblieben. Das Salz bewirkte übrigens eine Harnflut in einer Stärke, wie ich sie noch bei keinem der bisher von mir verfütterten Salze gesehen habe.

5. Periode.

Zum Schluß des Versuches bekam die Hündin nochmals das Grundfutter.

Pro Tag	2,50 g N,	ca. 542 Cal.
„ Kilogramm Lebendgewicht . .	0,39 „ „	„ 85 „

Tabelle XLI.

1913	N-Einnahme g	N-Ausgabe im Harn g	Kot g	zus. g	N-Bilanz g	Leb.-Gew. kg	Bemerkungen
6.—7. III.	2,50	2,13	0,49	2,62	— 0,12	6,37	
7.—8. „	2,50	2,31	0,49	2,80	— 0,30	6,42	
8.—9. „	2,50	2,16	0,49	2,65	— 0,15	6,38	
Mittel pro Tag	2,50	2,20	0,49	2,69	— 0,19	6,39	

Wenn das Kochsalz auch am 5./6. den Harnstickstoff unbeeinflußt gelassen hat, so scheint es dennoch nicht wirkungslos geblieben zu sein. Denn am 6./7. erreicht die Stickstoffausscheidung im Harn ihren tiefsten Stand. Im Mittel dieser drei Grundfuttertage beträgt die N-Bilanz — 0,19 g. Da, wie ich bei diesem Versuche schon bemerkte, das Tier bestrebt ist, sich dem Stickstoffgleichgewicht zu nähern, die Kochsalzgabe eine unmittelbare Wirkung auf den Stickstoffumsatz nicht ausgeübt hat, so kann nur, und zwar zu seinen Gunsten, gesagt werden, daß das Salz vielleicht auf eine weitere Einschränkung der Stickstoffabgabe im Harn hingewirkt hat.

Was den Kotstickstoff anbetrifft, so ist er, mit Ausnahme der 5. Periode einschließlich des Kochsalztages, wo er etwas erhöht ist, in allen Perioden fast unverändert. Das Lebendgewicht (vgl. hierzu die betreffende Spalte in den Tabellen) hat beständig abgenommen, von 7,35 kg bis auf 6,38 kg. Das Tier hat also 1 kg verloren. Dieser Verlust ist im wesentlichen

wieder natürlich auf die durchaus unzureichende Ernährung zurückzuführen, wofür ja auch die stets negativen N-Bilanzen sprechen.

Aus den eintägigen Salzfütterungen allgemeine Schlüsse für die verfütterten Salze zu ziehen, ist natürlich nur mit Einschränkung möglich. Allem Anschein nach haben citronensaures und milchsaures Natron eine dem essigsauren Salze ähnliche Wirkung. Für das weinsaure Natron hat dieser Versuch keine vorteilhafte Wirkung ergeben, und für das Kochsalz wäre zu sagen, daß es zunächst keine Wirkung hatte, sich aber an den folgenden Tagen eine wahrscheinlich auf das Salz zurückzuführende günstige Nachwirkung zeigte.

Versuch 7.

Daß Natriumacetat stickstoffsparend zu wirken vermag, haben die bisherigen Versuche unzweifelhaft ergeben. Es blieb nun zunächst die Frage offen, ob es sich dabei um eine Wirkung des Natriums oder der Essigsäure handelt. Um diese Frage zu untersuchen, stellte ich schließlich noch diesen 7. Versuch an.

Als Versuchstier diente eine rasselose Hündin X, die Pfingsten 1910 im Institut geboren worden war. Die Mutter des Tieres war die Hündin V (vgl. Versuche 3 und 5).

Zunächst beabsichtigte ich, nach einer mehrtägigen Grundfutterperiode der Hündin verdünnte Essigsäure nach der Futteraufnahme mittels Schlundsonde beizubringen. Da auf diese Weise dem Tiere auch gleichzeitig Wasser zugeführt wurde, gab ich auch in der Grundfutterperiode der Gleichmäßigkeit halber, teils mit Schlundsonde, teils mit dem Futter vermischt, dieselbe Wassermenge.

Nach 8 Hungertagen (vom 20. bis 28. II; das Lebendgewicht hatte sich in dieser Zeit von 11 kg auf 9,33 kg erniedrigt) gab ich dem Tiere folgendes Grundfutter:

50 g Pferdefleisch	1,79 g N,	ca. 80 Cal.
80 „ Reis	0,95 „ „	„ 296 „
50 „ Schweineschmalz	—	480 „
2 „ Kochsalz	—	—
Pro Tag	2,74 g N,	ca. 856 Cal.

Am 5. März früh begann der Versuch.

1. Periode.

Grundfutter . . . . 2,74 g N, ca. 856 Cal.
Pro Kilogramm Lebendgewicht . . 0,29 „ „ „ 91 „

Tabelle XLII.

1913	N-Einnahme g	N-Ausgabe im Harn g	Kot g	zus. g	N-Bilanz g	Leb.-Gew. kg	Bemerkungen
1.—2. III.	2,74	2,50	—	—	—	9,41	
2.—3. „	2,74	2,60	—	—	—	9,40	
3.—4. „	2,74	2,44	—	—	—	9,38	
4.—5. „	2,74	2,32	—	—	—	9,37	
5.—6. III.	2,74	2,32	0,41	2,73	+ 0,01	9,40	Kot abgegrenzt.
6.—7. „	2,74	2,23	0,41	2,64	+ 0,10	9,37	
7.—8. „	2,74	2,35	0,41	2,76	— 0,02	9,37	200 ccm Wasser im Futter besonders gegeben.
8.—9. „	2,74	2,32	0,41	2,73	+ 0,01	9,39	do.
9.—10. „	2,74	2,17	0,41	2,58	+ 0,16	9,37	do.
10.—11. „	2,74	2,24	0,41	2,65	+ 0,09	9,33	100 ccm do.
11.—12. „	2,74	2,21	0,41	2,62	+ 0,12	9,33	200 ccm do.
Mittel pro Tag	2,74	2,26	0,41	2,67	+ 0,07	9,37	

Das Tier ist ungefähr ins Stickstoffgleichgewicht gekommen. Im Mittel pro Tag beträgt die Stickstoffbilanz + 0,07 g.

Da die Hündin die Kieselsäureabgrenzung, selbst mit etwas Futter vermischt, nicht fraß, mußte ich sie ihr stets, mit etwas Wasser angerührt, mit der Schlundsonde geben.

In der 2. Periode wollte ich dem Tiere nach der Futteraufnahme mittags jetzt verschiedene Mengen Essigsäure, mit Wasser verdünnt, mit der Schlundsonde eingeben.

Am 12./13. bekam die Hündin 3 g Eisessig in 200 ccm Wasser. Das Tier vertrug die Säure gut. Im Harn schied es jetzt 2,18 g N aus.

Am folgenden Tage (13./14.) gab ich dem Tiere die doppelte Menge, also 6 g Eisessig, wieder in 200 ccm Wasser. Diese Dosis war jedoch zu kräftig. Das Tier erbrach bald das Futter.

Die Stickstoffausscheidung im Harn konnte ich so nicht feststellen.

Bisher hatte ich die Erfahrung gemacht, daß es vorteilhafter ist, nicht vom Stickstoffgleichgewicht auszugehen, wenn man Stickstoffretentionen erzielen will. Ich änderte deshalb jetzt das Grundfutter, um die Bilanz negativ zu machen,

da nach dem Ergebnis des einen Essigsäuretages bei der bisherigen Fütterung Ausschläge wahrscheinlich nicht zu erwarten waren.

Nach 2 Hungertagen (15. und 16. März 1913, das Lebendgewicht war bis auf 8,96 kg heruntergegangen) gab ich folgendes Grundfutter:

50 g Pferdefleisch	1,79 g N,	ca. 80 Cal.
60 „ Reis	0,71 „ „	„ 222 „
30 „ Schweineschmalz . . .	—	288 „
2 „ Kochsalz	—	—
Pro Tag	2,50 g N,	ca. 590 Cal.

also 20 g Reis und 20 g Schmalz diesmal weniger.

Am 17. März früh begann der Versuch.

Für die Tabellen muß ich bemerken, daß ich für Kotstickstoff in allen Tabellen dieselbe Zahl in Rechnung gesetzt habe. Hierzu sah ich mich veranlaßt, da, wie ich mich persönlich überzeugen konnte, die Hündin am 6. IV. in den Käfig Kot absetzte nnd sofort wieder fraß. Die in den einzelnen Perioden für den Kotstickstoff festgestellten Werte sind deshalb natürlich nicht einwandfrei, da die Hündin wahrscheinlich auch schon früher Kot gefressen haben wird. Da die Kotstickstoffzahlen nur wenig voneinander abweichen (0,32 g, 0,28 g, 0,28 g, 0,31 g, 0,23 g), habe ich das Mittel aus allen in die Tabellen eingesetzt.

1. Periode.

Grundfutter	2,50 g N,	ca. 590 Cal.
Pro Kilogramm Lebendgewicht . .	0,28 „ „	„ 66 „

Tabelle XLIII.

1913	N-Einnahme g	N-Ausgabe im Harn g	N-Ausgabe im Kot g	N-Ausgabe im zus. g	N-Bilanz g	Leb.-Gew. kg	Bemerkungen
17.—18. III.	2,50	—	0,28	—	—	8,96	Kot abgegrenzt.
18.—19. „	2,50	2,55	0,28	2,83	— 0,33	8,96	200 g aq. mit Schlundsonde gegeben.
19.—20. „	2,50	2,42	0,28	2,70	— 0,20	8,95	do.
20.—21. „	2,50	2,39	0,28	2,67	— 0,17	8,93	do.
21.—22. „	2,50	2,47	0,28	2,75	— 0,25	8,93	200 g aq. im Futter zugelegt.
22.—23. „	2,50	2,55	0,28	2,83	— 0,33	8,84	do.
23.—24. „	2,50	2,55	0,28	2,83	— 0,33	8,82	
24.—25. „	2,50	2,54	0,28	2,82	— 0,32	8,82	
25.—26. „	2,50	2,71	0,28	2,99	— 0,49	8,79	200 g aq. mit Schlundsonde gegeben. Später noch einmal, da zuerst viel aq. wieder ausgebrochen.
26.—27. „	2,50	2,58	0,28	3,86	— 0,36	8,76	
Mittel pro Tag	2,50	2,53	0,28	2,81	— 0,31	8,88	

Am 7. und 8. Tage gab ich der Hündin kein Wasser besonders. Auf den Stickstoffgehalt des Harnes hat die tägliche geringe Zufuhr von 200 ccm Wasser, wie aus der Tabelle ersichtlich, keinen Einfluß. Am 25./26. hatte die Hündin den größten Teil des mit der Schlundsonde gegebenen Wassers bald wieder erbrochen. Futter war dem Erbrochenen nicht beigemengt. Ich gab deshalb dem Tiere nach 3 Stunden abermals 200 ccm Wasser mit der Schlundsonde. Die Folge dieser größeren Wasserzufuhr war eine deutlich vermehrte Harnabsonderung, worauf wohl die etwas erhöhte Stickstoffausscheidung an diesem Tage zurückzuführen ist (schwache Ausspülung). Bei der unzureichenden Ernährung hat sich das Tier nicht ins Stickstoffgleichgewicht einstellen können. Stickstoffbilanz —0,31 g.

2. Periode.

Nach der Futteraufnahme bekam die Hündin verschiedene Mengen Essigsäure, mit Wasser verdünnt, mittels Schlundsonde.

Pro Tag . . . . 2,50 g N, ca. 590 Cal.
„ Kilogramm Lebendgewicht . . 0,29 „ „ „ 68 „

Tabelle XLIV.

1913	N-Einnahme	Essigsäure	N-Ausgabe im			N-Bilanz	Leb.-Gew.	Bemerkungen
			Harn	Kot	zus.			
	g	g	g	g	g	g	kg	
27.—28. III.	2,50	3,0	2,62	0,28	2,90	— 0,40	8,77	Kot abgegrenzt. 200 g Wasser gegeben.
28.—29. „	2,50	1,5	2,74	0,28	3,02	— 0,52	8,76	100 g Wasser gegeben.
29.—30. „	2,50	1,5	2,61	0,28	2,89	— 0,39	8,71	100 g do.
30.—31. „	2,46	3,0	2,77	0,28	3,05	— 0,59	8,71	150 g do.
31. III.—1. IV.	2,41	3,0	2,49	0,28	2,77	— 0,36	8,68	200 g do.
Mittel pro Tag	2,47	2,4	2,65	0,28	2,93	— 0,46	8,73	

Am 1. Tage gab ich die Essigsäure in 2 Portionen. Um 1/4 1 Uhr 0,5 g Essigsäure in 100 ccm Wasser und dieselbe Menge um 1/2 2 Uhr. Um 5 Uhr nachmittags hatte die Hündin etwas Schleim mit Reis in den Käfig gebrochen. Trotzdem das Erbrochene kräftig nach Essigsäure roch, hat sie es wieder sofort gefressen. Da die Gabe von 3 g Essigsäure etwas zu reichlich zu sein schien, gab ich dem Tiere an den beiden folgenden

Tagen nur je $1^1/_2$ g in 100 ccm Wasser. Am 4. Tage gab ich, da das Tier die $1^1/_2$ g Essigsäure gut vertragen hatte, wieder 3 g, diesmal nur in 150 ccm Wasser. Die Gabe war jedoch wieder etwas zu reichlich, denn die Hündin erbrach sofort etwas Flüssigkeit, mit wenig Reis vermischt. Den Stickstoffgehalt des Erbrochenen von 0,04 g (selbstverständlich analytisch nach Kjeldahl festgestellt) habe ich vom Stickstoffgehalt des Grundfutters in Abzug gebracht. Am letzten Tage gab ich schließlich noch einmal 3 g Essigsäure, mit 200 ccm Wasser verdünnt. Aber auch diesmal brach die Hündin wieder etwas Flüssigkeit und wenig Reis. Das Erbrochene wurde wieder auf Stickstoff untersucht und die gefundenen 0,09 g vom Grundfutterstickstoff in Abzug gebracht.

Die Stickstoffabgabe im Harn ist mit Ausnahme des letzten Tages im Vergleich mit der Grundfutterperiode 1 etwas erhöht. Die Essigsäure hat also keine stickstoffsparende, sondern eher eine die Stickstoffausscheidung vermehrende Wirkung gehabt. Auf eine spezifisch schädliche Wirkung der Essigsäure kann jedoch aus den relativ geringen Differenzen nicht geschlossen werden.

3. Periode.

Das Tier bekam jetzt wieder das Grundfutter.

Pro Tag . . . . 2,50 g N ca. 590 Cal.
„ Kilogramm Lebendgewicht . 0,29 „ „ „ 68 „

Tabelle XLV.

1913	N-Einnahme g	N-Ausgabe im Harn g	Kot g	zus. g	N-Bilanz g	Leb.-Gew. kg	Bemerkungen
1.—2. IV.	2,50	2,56	0,28	2,84	−0,34	8,71	Kot abgegrenzt.
2.—3. „	2,50	2,53	0,28	2,81	−0,31	8,67	200 ccm Wasser mit Schlundsonde gegeben.
3.—4. „	2,50	2,36	0,28	2,64	−0,14	8,60	
4.—5. „	2,50	2,36	0,28	2,64	−0,14	8,61	
5.—6. „	2,50	2,29	0,28	2,57	−0,07	8,60	200 ccm Wasser mit Schlundsonde gegeben.
Mittel pro Tag	2,50	2,42	0,28	2,70	−0,20	8,64	

Eine schädliche Nachwirkung der früher gegebenen Essigsäure ist aus den Harnstickstoffzahlen nicht zu ersehen. Die stetig abnehmende Stickstoffausscheidung im Harn deutet auf

das Bestreben des Tieres hin, sich dem Stickstoffgleichgewicht zu nähern. Die Bilanz ist von — 0,46 g N im Mittel pro Tag der Essigsäureperiode bis auf — 0,20 g N herabgegangen. Auch diese Nachperiode läßt den Schluß zu, daß die Essigsäure in der 2. Periode auf die Stickstoffabgabe im Harn keineswegs günstig gewirkt hat.

4. Periode.

Auch während dieser Periode bekam die Hündin das Grundfutter.

Pro Tag . . . . 2,50 g N, ca. 590 Cal.
„ Kilogramm Lebendgewicht . 0,30 „ „ „ 70 „

Tabelle XLVI.

1913	N-Einnahme g	N-Ausgabe im Harn g	Kot g	zus. g	N-Bilanz g	Leb.-Gew. kg	Bemerkungen
6.— 7. IV.	2,50	—	0,28	—	—	8,65	p. 10 g Natriumacetat in 200 ccm Wasser m. d. Schlundsonde gegeben.
7.— 8. „	2,50	2,72	0,28	3,00	— 0,50	8,47	
8.— 9. „	2,50	2,49	0,28	2,77	— 0,27	8,46	
9.—10. „	2,50	2,48	0,28	2,76	— 0,26	8,46	
10.—11. „	2,50	2,64	0,28	2,92	— 0,42	8,47	
11.—12. „	2,50	2,78	0,28	3,06	— 0,56	8,39	Kot abgegrenzt.
12.—13. „	2,50	2,80	0,28	3,08	— 0,58	—	
13.—14. „	2,50	2,47	0,28	2,75	— 0,25	8,34	
14.—15. „	2,50	2,74	0,28	3,02	— 0,52	8,33	
Mittel pro Tag	2,50	2,64	0,28	2,92	— 0,42	8,45	

Meine Absicht, dem Tiere nunmehr, ähnlich wie in Periode 2, nach der Futteraufnahme diesmal täglich 10 g essigsaures Natron in 200 ccm Wasser gelöst mit der Schlundsonde zu geben, mußte ich aufgeben, da das Tier gleich am ersten Tage, (6./7.) bald nach der Einverleibung des Salzes, alles Futter erbrach. An diesem Tage machte ich auch die unangenehme Wahrnehmung, daß die Hündin ihren Kot frißt. Von nun an ließ ich das Tier mit Beißmaulkorb im Käfig. Da die Hündin das stark nach Essigsäure riechende erbrochene Futter nicht mehr nahm, gab ich ihr vom 7./8. ab bis zum 14./15. wieder das Grundfutter.

5. Periode.

Im Grundfutter bekam die Hündin 3 Tage lang je 10 g, am 4. Tage 15 g Natriumacetat.

Pro Tag . . . . 2,50 g N, ca. 590 Cal.
„ Kilogramm Lebendgewicht . 0,30 „ „ „ 72 „

Tabelle XLVII.

1913	Einnahme		N-Ausgabe im			N-Bilanz	Leb.-Gew.	Bemerkungen
	N g	Natr. acet. g	Harn g	Kot g	zus. g	g	kg	
15.—16. IV.	2,50	10	2,55	0,28	2,83	— 0,33	8,28	Kot abgegrenzt.
16.—17. „	2,50	10	2,80	0,28	3,08	— 0,58	8,20	
17.—18. „	2,50	10	2,65	0,28	2,93	— 0,43	8,22	
18.—19. „	2,50	15	2,66	0,28	2,94	— 0,44	8,26	
Mittel pro Tag	2,50		2,67	0,28	2,95	— 0,45	8,24	

Entgegen meinen bisherigen Erfahrungen hat trotz negativer Stickstoffbilanz das Natriumacetat keine Wirkung geäußert. Die mittlere tägliche Stickstoffausscheidung im Harn ist um 0,03 g gegen Periode 4 nur verändert. Die Bilanz ist so weiter negativ geblieben. An allen Tagen war die diuretische Wirkung des Salzes deutlich vorhanden. Das Tier nahm auch täglich Wasser.

6. Periode.

Zur Erkennung einer Nachwirkung des Natriumacetats bekam das Tier wieder das Grundfutter.

Pro Tag . . . . 2,50 g N, ca. 590 Cal.
„ Kilogramm Lebendgewicht . . 0,30 „ „ „ 72 „

Tabelle XLVIII.

1913	N-Einnahme	N-Ausgabe im			N-Bilanz	Leb.-Gew.	Bemerkungen
	g	Harn g	Kot g	zus. g	g	kg	
19.—20. IV.	2,50	2,72	0,28	3,00	— 0,50	8,20	
20.—21. „	2,50	2,53	0,28	2,81	— 0,31	8,20	
21.—22. „	2,50	2,80	0,28	3,08	— 0,58	8,20	
Mittel pro Tag	2,50	2,68	0,28	2,91	— 0,41	8,20	

Das Tier ist in seinem Stickstoffumsatz unverändert geblieben. Auch aus dieser Nachperiode ist nur auf Wirkungslosigkeit des vorher gegebenen Natriumacetats zu schließen.

7. Periode.

Da Natriumacetat keine Wirkung gehabt hatte, gab ich in dieser Periode Ammonacetat (1,06 g N) mit dem Grundfutter.

Pro Tag . . . . 3,56 g N, ca. 590 Cal.
„ Kilogramm Lebendgewicht . 0,44 „ „ „ 72 „

Tabelle XLIX.

1913	N-Einnahme g	N-Ausgabe im Harn g	Kot g	zus. g	N-Bilanz g	Leb.-Gew. kg	Bemerkungen
22.—23. IV.	3,56	3,71	0,28	3,99	– 0,43	8,24	Kot abgegrenzt.
23.—24. „	3,56	2,72	0,28	4,00	– 0,44	8,14	
24.—25. „	3,56	3,44	0,28	3,72	– 0,16	8,12	
Mittel pro Tag	3,56	3,62	0,28	3,90	– 0,34	8,17	

Nur am 3. Tage hat das Ammonsalz den Stickstoffumsatz herabgesetzt. Da das Tier schon verhältnismäßig lange im Versuch war und ich nochmals das Grundfutter ändern wollte, begnügte ich mich mit dieser nur 3tägigen Ammonacetat-Periode.

Am 25./26. gab ich wieder das Grundfutter (der Harnstickstoff betrug für diesen Tag 2,57 g) und am 26./27. ließ ich die Hündin hungern (Harnstickstoff des Hungertages 1,90 g).

Um eine deutliche Herabsetzung des Stickstoffumsatzes durch Natriumacetat zu bekommen, änderte ich nochmals das Grundfutter, indem ich 10 g Fleisch fortließ.

Am 27. bekam die Hündin jetzt folgendes Grundfutter:

40 g Pferdefleisch . 1,43 g N, ca. 64 Cal.
60 „ Reis . . . . 0,71 „ „ „ 222 „
31,7 „ Schmalz . . . — „ 304 „
Pro Tag . . . . . . 2,14 g N, ca. 590 Cal.

Bei gleicher Caloriengabe bekam das Tier jetzt 0,36 g Fleisch-N pro Tag weniger.

8. Periode.

Grundfutter . . . . 2,14 g N, ca. 590 Cal.
Pro Kilogramm Lebendgewicht . 0,27 „ „ „ 73 „

Tabelle L.

1913	N-Einnahme g	N-Ausgabe im Harn g	N-Ausgabe im Kot g	N-Ausgabe im zus. g	N-Bilanz g	Leb.-Gew. kg	Bemerkungen
27.—28. IV.	2,14	2,69	0,26	2,95	— 0,81	7,96	Kot abgegrenzt.
28.—29. IV.	2,14	2,20	0,26	2,46	— 0,32	8,02	
29.—30. „	2,14	2,09	0,26	2,35	— 0,21	8,05	
30. IV.—1. V.	2,14	2,14	0,26	2,40	— 0,26	8,08	
1.—2. V.	2,14	2,21	0,26	2,47	— 0,33	8,00	
Mittel pro Tag	2,14	2,16	0,26	2,42	— 0,28	8,02	

Am 1. Tage, der auf den Hungertag folgte, ist die Stickstoffabgabe im Harn natürlich noch erhöht. Das Mittel habe ich deshalb in dieser Tabelle nur aus den letzten 4 Tagen genommen. Die Stickstoffbilanz ist weiter negativ — 0,28 g.

9. Periode.

Dem Grundfutter legte ich jetzt an den ersten beiden Tagen je 10 g Natriumacetat und an den beiden folgenden Tagen je 10 g Natriumcitrat zu.

Pro Tag . . . . 2,14 g N, ca. 590 Cal.
„ Kilogramm Lebendgewicht . 0,27 „ „ „ 74 „

Tabelle LI.

1913	N-Einnahme g	N-Ausgabe im Harn g	N-Ausgabe im Kot g	N-Ausgabe im zus. g	N-Bilanz g	Leb.-Gew. kg	Bemerkungen
2.—3. V.	2,14	1,89	0,26	2,15	— 0,01	8,04	10 g Natriumacetat gegeb.
3.—4. „	2,14	2,21	0,26	2,47	— 0,33	7,96	do.
4.—5. „	2,14	} 2,29	0,26	} 2,55	} — 0,41	7,94	10 g Natriumcitrat gegeb.
5.—6. „	2,14					7,94	do.
Mittel pro Tag	2,14	2,17	0,26	2,43	— 0,29	7,97	

Am 1. Tage (2./3.) hat das Salz gewirkt. An diesem Tage ist das Tier ins Stickstoffgleichgewicht gekommen. Aber schon am folgenden Tage ist keine Wirkung des Natriumacetats zu bemerken. Auch das Natriumcitrat, das ich vom 3. Tage an gab, weil das Tier das etwas nach Essigsäure riechende Futter anfing schlechter aufzunehmen, ist wirkungslos geblieben. Am 4./5. hatte die Hündin etwas Futter erbrochen, das ich am 5./6. mit der neuen Ration mitgab. Ich habe deshalb das Mittel aus den Harnstickstoffzahlen beider Tage in Rechnung gesetzt. Beide Salze bewirkten ungefähr die gleiche Diurese.

Am 6./7. gab ich schließlich noch das Grundfutter. Das Tier schied jetzt 2,30 g N im Harn aus. Damit war der Versuch beendet.

Was das Lebendgewicht des Tieres während dieses Versuches betrifft, so ist eine ständige Abnahme zu konstatieren. Während der 76 Versuchstage hat das Tier (11 kg — 7,87 kg) 3,13 kg verloren. Dieser Verlust ist natürlich fast ausschließlich auf die zu geringen Stickstoff- und Caloriengaben zurückzuführen. Das Tier verlor täglich Stickstoff.

Dieser letzte Versuch hat ergeben, daß Essigsäure mit Wasser verdünnt bis zu 3 g pro Tag gegeben auf die Stickstoffabgabe im Harn keineswegs günstig eingewirkt hat. Aus der geringen Erhöhung der Harnstickstoffzahlen läßt sich aber andererseits auch nicht mit Sicherheit auf eine ungünstige Wirkung schließen.

Im Gegensatz zu allen bisherigen Versuchen vermochte Natriumacetat trotz negativer Bilanz in einer Periode gar keine Wirkung zu äußern, und in einer späteren Periode, nachdem das Grundfutter noch stickstoffärmer gemacht worden war, nur am ersten Tage den Stickstoffumsatz herabzusetzen.

Ähnlich verhielt sich Ammonacetat. Auch dieses Salz bewirkte nur am letzten Tage einer dreitägigen Periode eine Einschränkung des Harnstickstoffs.

Ich muß es dahingestellt sein lassen, ob die zuerst gegebene Essigsäure die zum Teil vollständige Unwirksamkeit der später gegebenen Salze verschuldet haben kann.

Als wichtigstes Ergebnis ist aus den vorstehenden Versuchen zunächst festzustellen, daß essigsaures Natron, einem Grundfutter zugelegt, die Stickstoffausscheidung im Harn beträchtlich herabzusetzen vermag, während es auf den Kotstickstoff ohne Wirkung ist. Auch das citronensaure und milchsaure Natron, sowie das essigsaure Magnesium wirken gleichfalls stickstoffsparend wahrscheinlich in ähnlichem Umfange wie essigsaures Natron. Bei der reinen Essigsäure dagegen konnte keine derartige Wirkung beobachtet werden.

Wie ist nun diese Wirkung des stickstofffreien essigsauren Natrons zu erklären?

Da ich in allen Fällen lediglich nur die Stickstoffbilanz aufgestellt habe, also nur den N-Gehalt des per os gegebenen und des Harns und Kotes bestimmt habe, ist, namentlich bei der Unkenntnis des intermediären Stoffwechsels, eine eindeutige Erklärung zu geben natürlich nicht möglich. Über Vermutungen hinaus, die vielleicht zum Teil der experimentellen Prüfung zugänglich sind, kann ich mich deshalb heute nicht äußern.

Zunächst handelt es sich wohl um die Frage: „Sind die mit essigsaurem Natron bewirkten Stickstoffretentionen durch wertlose Aufspeicherung stickstoffhaltiger Stoffwechselprodukte im Organismus zu erklären, oder haben wir es mit Vorgängen zu tun, die mit der Ernährung in ursächlichem Zusammenhang stehen? Die Frage, ob durch unbestimmbare Stickstoffverluste (z. B. Abgabe elementaren Stickstoffs usw.) eine Stickstoffsparung könnte vorgetäuscht worden sein, will ich nicht erwägen, weil mir dazu jegliche Grundlage zu fehlen scheint.

Was das erstere betrifft, so halte ich eine Zurückhaltung stickstoffhaltiger Stoffwechselprodukte für unwahrscheinlich, weil einmal so die zum Teil bedeutenden Nachwirkungen des Natriumacetats (vgl. z. B. Tab. IV und V) nicht erklärt werden könnten und andererseits auch nach Salzfütterungen in den Nachperioden entsprechende Stickstoffausschwemmungen, die ich jedoch in keinem Falle beobachten konnte, wohl stattfinden müßten. Bei der Kürze der von mir gewählten Perioden könnte diese Frage allerdings bis zum gewissen Grade offen bleiben.

So bliebe also zunächst die Frage übrig, ob es sich um Einwirkungen auf Ernährungsvorgänge handeln kann.

Was nun die schon in der Einleitung erwähnten Anschauungen verschiedener Forscher über die Wirkung von Ammoniaksalzen betrifft, so sind diese nach meinen Versuchen nicht mehr haltbar. Denn da die stickstoffsparende Wirkung des Ammonacetats der des Natriumacetats vergleichbar ist, ja das letztere Salz sogar noch insofern besser zu wirken scheint, wäre die ev. Annahme, daß es sich bei beiden Salzen zwar um denselben Effekt, aber um einen ganz anderen intermediären Vorgang handeln kann, von vornherein wohl so gezwungen, daß sie als unglaubwürdig fallen gelassen werden muß, um so mehr als sich für eine solche Auffassung keinerlei stichhaltige Gründe finden lassen. Gegen diese Anschauung würde auch sprechen, daß die Caloriengaben nicht von ausschlaggebender Bedeutung für meine Versuche gewesen sind. Denn ich habe die stickstoffsparende Wirkung der Salze ebenso wohl gefunden, wenn ich die Tiere reichlich und wenn ich sie relativ arm mit stickstofffreien Nährstoffen versorgte. Im ersteren Falle nehmen die Tiere nur an Gewicht zu, in letzterem ab.

Wie läßt sich nun die Wirkung des Natriumacetats auf Ernährungsvorgänge denken?

Daß das Salz auf die Ernährung von Einfluß ist, dafür würde unter anderem auch sprechen, daß sich Stickstoffsparungen im allgemeinen nur dann beobachten ließen, wenn die Tiere so wenig Eiweiß erhielten, daß sie sich nicht ins Stickstoffgleichgewicht zu stellen vermochten. Erinnert werden muß hier jedoch an Versuch 1, wo Hündin VI, fast im Stickstoffgleichgewicht, durch Natriumacetat auf positive N-Bilanz gebracht werden konnte und durch abermalige Gabe des Salzes weitere N-Retentionen erzielt werden konnten. Ebenso an Versuch 7, wo Hündin X, auf negative Stickstoffbilanz eingestellt, auf Natriumacetat nur an einem Tage entsprechend reagierte. In diesem Falle kommen allerdings wohl noch die dem Tiere vorher verabreichten Gaben von reiner Essigsäure in Betracht, für die ich es dahingestellt sein lassen muß, ob sie nicht auf die späteren Salzergebnisse von Einfluß gewesen sind.

Es würde sich nun wohl ferner fragen, ob die organische Säure des Salzes oder das Natrium resp. Ammoniak die Wirkung verursachen.

Was die Bedeutung der organischen Säuren betrifft, so haben Versuche, in denen man freie Säuren gegeben hat, soweit mir bekannt, keine Stickstoffsparung ergeben. Da andererseits nun die mit den organischen Säuren gegebenen wenigen Calorien auch nur zum Teil für den Organismus in Betracht kommen, so lassen sich die Stickstoffretentionen als eine durch die Calorien der organischen Säuren in direkt bewirkte Ersparnis von Eiweiß nicht erklären. Dagegen würde auch sprechen, daß, wie sicher festgestellt, calorienfreie Salze wie Kochsalz, Salpeter usw. die Stickstoffausscheidung im Harn herabsetzen. Es scheint also demnach eine Alkaliwirkung vorzuliegen.

Für diesen Fall wäre vielleicht zu denken, daß die Neutralitätsregelung durch die zugeführten Salze beeinflußt werden könnte, insofern als ein Ersatz des Neutralisationsammoniaks durch Natrium resp. das Ammoniak der Ammoniaksalze stattfinden könnte. Für diese Anschauung finden sich Stützen durch das Experiment. Bekanntlich bewirkt Säurezufuhr beim Fleischfresser vermehrte Ammoniakabscheidung (Neutralisationsammoniak) im Harn. Umgekehrt verschwindet bei Alkalizufuhr das Ammoniak fast vollständig aus dem Harn, woraus zu schließen ist, daß das Alkali die Rolle des Neutralisationsammoniaks, als welches das Ammoniak des Harns wohl im wesentlichen anzusehen ist, übernommen hat. Es besteht nun wohl die Möglichkeit, daß die Salze einen Teil der aus dem Eiweiß abgespaltenen Aminosäuren vor der Desaminierung zum Zwecke der Bildung von Neutralisationsammoniak bewahren, das immer notwendig ist, um die in Stoffwechsel entstehenden Säuren zu neutralisieren, indem an dessen Stelle das durch Oxydation im Organismus gebildete kohlensaure Natron resp. Ammoniak tritt. Auf diese Weise würde der Organismus seinen Stickstoffumsatz einschränken können, da ihm so Aminosäuren zur Eiweißsynthese erhalten bleiben.

Gegen diese Annahme würde allerdings die z. T. sehr große Menge des durch Salze ersparten Stickstoffs sprechen,

die sich nicht ungezwungen so erklären läßt. Immerhin darf gesagt werden, daß ein Teil der Stickstoffsparung durch Ersatz des Neutralisationsammoniaks zustande kommen kann.

Für den Pflanzenfresser käme nun eine Stickstoffsparung in der oben skizzierten Weise nicht in Betracht, da diese Tiere bekanntlich Neutralisationsammoniak nicht in dem Maße zu bilden vermögen, um sich gegen Säurezufuhr zu schützen. Da außerdem Gabriel[1]) beim Hammel mit Kochsalz eine Verminderung des Stickstoffumsatzes gefunden hat, so dürfte auch diese Erklärung für den Fleischfresser nur von untergeordneter Bedeutung sein.

Ob es sich schließlich bei den von mir gefundenen Stickstoffsparungen um Verhältnisse handelt, die ins Gebiet der Pathologie gehören, will ich nicht näher erörtern. Der eine Fall mit der Hündin V, die an hämorrhagischer Nephritis schwer erkrankte, würde ja vielleicht dahin deuten. Da aber die anderen Tiere, übrigens die Hündin V in früheren Versuchen auch, keinerlei Störungen ihres Befindens während der Salzfütterungen zeigten, scheinen mir Erklärungen für meine Versuche in dieser Richtung nicht zu liegen.

Nach alledem dürfte es nach meinen Versuchen wohl am wahrscheinlichsten sein, daß die Wirkung der Salze im Zusammenhang mit Ernährungsvorgängen zu denken ist. Wie dieses vor sich geht, beispielsweise als Reiz auf die Zellen usw., hier näher darzulegen, dürfte bei dem gegenwärtigen Stand der Frage nicht von Wert sein. Ich sehe deshalb heute von weiteren Erörterungen ab, bis ich jetzt beginnende Versuche mit Wiederkäuern (Hammeln), denen ich unter verschiedenen Ernährungsbedingungen verschieden große Mengen von Natriumacetat verabfolgen werde, abgeschlossen haben werde. Sollte es nämlich nicht möglich sein, bei diesen Tieren ähnliche Einwirkungen auf den Stoffwechsel wie beim Hunde zu erzielen [Weiske l. c. fand bekanntlich keine Einwirkung], dann würde sich so nicht nur ein bedeutungsvoller Unterschied zwischen Fleisch- und Pflanzenfresser ergeben, der für die Deutung der Frage der Salzwirkung von großer

---

Zeitschr. f. Biol. 29, 554, 1892.

Bedeutung wäre, sondern es würde auch dann gleichzeitig indirekt eine neue Stütze für die bisher bestehende Anschauung erbracht sein, daß nämlich die Wirkung von Ammoniaksalzen beim Wiederkäuer auf Bakterientätigkeit zurückzuführen ist.

Erst wenn die Einwirkung stickstofffreier Salze auch beim Pflanzenfresser ein eingehendes Studium erfahren haben wird, will mir ein weiteres Eingehen auf die Frage der stickstoffsparenden Salzwirkungen von Wert erscheinen.

Über die Rolle der Säure im Kohlenhydratstoffwechsel.

II. Mitteilung.

Über Hungerdiabetes.

Von

H. Elias und L. Kolb.

(Aus der I. medizinischen Universitätsklinik in Wien.)

(Eingegangen am 14. April 1913.)

In einer vorangegangenen Arbeit[1]) war durch den einen von uns der Wirkungsmechanismus der Säure auf den Kohlenhydratstoffwechsel festgestellt worden. Es war der Beweis erbracht worden, daß auch verhältnismäßig geringe Säuremengen ohne Beteiligung der Nebennieren Glykogen mobilisieren und dadurch zur Hyperglykämie und Glucosurie führen, ferner, daß der Angriffspunkt der Säurewirkung in der Leber selbst zu suchen sei.

Schon damals drängte sich die Frage auf[2]), wieweit in den verschiedenen pathologischen Zuständen, die mit Säuerung des Organismus einhergehen, die beschriebene Wirkung der Säure eine Rolle spielt. Diese Frage schien um so wichtiger, als sich vielleicht später auf Grund besserer Erkenntnis dieser Vorgänge therapeutische Winke von selbst ergeben dürften.

Von den verschiedenartigen dabei in Frage kommenden Zuständen, die auf diesen Punkt hin untersucht wurden, soll hier nur der sogenannte Hungerdiabetes von Hofmeister einer solchen Betrachtung unterzogen werden. Denn da der Hungerzustand in seiner verschiedenen Intensität an der Grenze des physiologischen und pathologischen Geschehens steht, so ist vielleicht gerade dieses Zustandsbild geeignet, uns zu Aufschlüssen über die Rolle der Säure auch im physiologischen Ablauf der Stoffwechselvorgänge hinüberzuführen.

Hofmeister hat im Jahre 1890[3]) nachgewiesen, daß bei jungen Hunden durch ungenügende Ernährung die Kohlenhydrattoleranz sehr stark, u. zw. bis auf weniger als die Hälfte, herabsinkt. Nachdem er fest-

[1]) Diese Zeitschr. 48, Heft 1 und 2.

[2]) Vgl. l. c. S. 122 und 123.

[3]) Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol. 26, 355. — Vgl. auch Lehmann, Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol. 2, 463 und Cl. Bernard, Leçons sur le diabète 1877, 394.

gestellt hatte, daß diese Anomalie nicht auf einer schlechteren Resorption der Kohlenhydrate beruhe, kommt er zu dem Schluß: „Vielmehr kann es sich dabei nur um eine mangelhafte Ausnützung des bereits resorbierten Zuckers handeln. In Betreff der physiologischen Seite der Frage aber . . . geben meine Versuche keinerlei Anhaltspunkte."

Beim Menschen ist im akuten Hunger die Assimilationsgrenze für Kohlenhydrate nicht vermindert, während die Beobachtungen dieser Verhältnisse im chronischen Hungerzustand zu keinem einheitlichen Resultat geführt haben [1]).

Daß der Hungerzustand eine Säuerung des Blutes durch die entstehenden Acetonkörper (Oxybuttersäure und Acetessigsäure) mit sich bringt, ist ja eine altbekannte Sache. Aber gerade bei Hunden, die gewöhnlich nur Spuren von Aceton im Hungerzustand ausscheiden, schien es trotz der darüber bestehenden Angaben (s. später) sehr fraglich, ob die dadurch entstehende Säuerung zur Herabsetzung der Kohlenhydrattoleranz genügen könnte. Doch eben junge Hunde — und nur solche hat Hofmeister in seinen Versuchen verwendet — nehmen diesbezüglich eine Ausnahmestellung ein, indem bei ihnen eine beträchtliche Acetonkörperausscheidung nicht gar selten ist [2]). Daß aber bei älteren Hunden der Hungerdiabetes nur unvollkommen zu erzeugen ist, konnten wir in hier nicht näher angeführten Versuchen zweimal beobachten.

Dann war aber auch zu bedenken, daß sonst im Hunger schon durch die sauren Endprodukte der Eiweißverdauung allein eine Säuerung des Organismus erfolgt. Aber eben beim Hund, der sich auch sonst nur von Fleisch ernährt, durfte man eine bedeutendere Säuerung dieser Genese von Anfang an nicht voraussetzen.

Ob also Säuren in nachweisbarer Menge vom hungernden Hund produziert werden und ob die produzierten Säuremengen zur Herabsetzung der Kohlenhydrattoleranz genügen, wieweit also diese Säuerung als Ursache des Hungerdiabetes angesehen werden darf, das festzustellen ist der Vorwurf vorliegender Arbeit.

Da galt es zunächst, das Bestehen der Säuerung überhaupt nochmals sicher zu beweisen. Zu dem Zweck wurden

1. fortlaufend demselben Tiere in den verschiedenen Versuchsperioden Blutproben entnommen und nach Spiro und Pemsel [3]) titriert;

2. Kohlensäurespannungsbestimmungen in der geschlossenen Alveolarluft an demselben Hunde im Normal- und Hungerzustand ausgeführt.

---

[1]) Literatur bei v. Noorden, Handb. d. Stoffwechselpathol. **1**, 537, und Asher-Spiro, Ergebn. d. Physiol. I. 1, S. 710. Vielleicht ließe sich aber bei näherer Untersuchung in dieser Richtung noch manche Analogie zwischen Hungerdiabetes und dem Nährschaden der Säuglinge finden, die ja Acidosis und schließlich auch Glucosurie zeigen.

[2]) O. Neubauer, Biochem. Arbeitsmethoden **5**, 2, S. 1216 u. 1217.

[3]) K. Spiro und W. Pemsel, Zeitschr. f. physiol. Chem. **26**, 233, 1898.

War einmal eine genügend intensive Säuerung als solche im Hungerhund erwiesen, so erschien erst das klargestellt, was bei der experimentellen Säurevergiftung die Hand des Experimentators hinzufügt. Alle übrigen als Merkmale für die bei Säurediabetes geltenden Befunde mußten erst erhoben werden.

So mußte sich eine beträchtliche Hyperglykämie finden lassen, und die Splanchnikotomie durfte das Zustandekommen des Diabetes nicht verhindern. Dagegen mußte, wenn der Säure eine integrierende Rolle beim Zustandekommen des Hungerdiabetes zukommt, eine Neutralisierung der betreffenden Säure durch Alkali einen deutlich erkennbaren, hemmenden Einfluß auf den Verlauf des Hungerdiabetes nehmen.

Methodik.

Als *Versuchstiere* wurden, so wie bei *Hofmeister*, junge Hunde gewählt. Sie wurden stets abends gefüttert und blieben bis nach Ablauf des Versuches nüchtern. Ihre Toleranz wurde auf Zucker und nicht auf Stärke geprüft, um die Beteiligung amylolytischer Fermente beim Zustandekommen der fraglichen Erscheinungen auszuschalten, und zwar erhielten die Versuchstiere die entsprechenden Mengen von Glucoselösung durch die Schlundsonde zugeführt. Manchmal wurde auch in der Hungerperiode etwas Fleisch oder Milch zugefüttert, wenn es wünschenswert schien, die Intensität des Hungerdiabetes herabzusetzen, oder den Kräftezustand des sehr herabgekommenen Tieres wieder zu heben.

Nur in seltenen Fällen wurde mit Rücksicht auf den rapiden Kräfteverfall der jungen und darum empfindlichen Tiere, um die Versuche vor dem Tode des Hundes noch rechtzeitig zum Abschluß zu bringen, an zwei aufeinanderfolgenden Tagen dasselbe Tier in den Versuch genommen. In der Regel lag mindestens ein Tag dazwischen.

Zur *Splanchnikotomie* wurden die Nervi splanchnici unter den Zwerchfellschenkeln aufgesucht, bis gegen die Nebennieren zu reseziert und das Ganglion coeliacum exstirpiert. Eine geringe arterielle Blutung ließ sich stets leicht stillen.

Der *Harn* der Tiere wurde meistens in $1^1/_2$ stündigen Intervallen mittels Katheter gewonnen; ein Ausspülen der Blase wurde vermieden, um die Verhältnisse der Diurese, wenn auch nur in groben Umrissen, studieren zu können.

Die Zuckerbestimmungen im Harn wurden nach der an der Klinik üblichen jodometrischen Methode von Citron angestellt, in fraglichen Fällen das Vorhandensein von Zucker durch Gärung nachgewiesen.

Die Blutentnahmen aus der Arterie zur Blutzuckerbestimmung wurden in allen Versuchen tunlichst zur gleichen Zeit ohne Narkose vorgenommen; die Enteiweißung des gewonnenen Blutes erfolgte nach Schenk, die Blutzuckerbestimmung selbst nach der Methode von Bertrand.

Zur Titration des Blutes nach Spiro und Pemsel wurden aus der in die Arterie eingebundenen Kanüle mit einer mit Natriumoxalat beschickten, gutkalibrierten Spritze 9 ccm Blut entnommen, dann das Oxalatblut mit 20 ccm Ätherwasser in einem Kölbchen hämolysiert, nach der Enteiweißung durch Ammonsulfat mit destilliertem Wasser auf das Doppelte verdünnt und in gewöhnlicher Weise titriert.

Zur Bestimmung der CO_2-Spannung in der geschlossenen Alveolarluft wurde ein Tamponkatheter den Hunden durch eine Trachealkanüle, und zwar früh morgens in nüchternem Zustande, eingeführt.

Nachdem der ca. 4 bis 6 cm von dem Katheterende angebrachte, aus dünnem Gummi hergestellte, kleine, spindelförmige Ballon aufgeblasen und damit der Abschluß des Bronchus nach außen hergestellt worden war, konnte man nach 25 Sekunden ein größeres Quantum Bronchialluft, das sich inzwischen mit dem venösen Blut der Lungenarterien ins Gleichgewicht gesetzt hatte, aspirieren. Der tamponierende Ballon stand dabei durch den ihn füllenden Schlauch, mit einem zweiten Ballon, der seitlich nahe dem äußern Ende dieses dünneren Schlauches befestigt war, in Kommunikation. Da dieser zweite Ballon auch nach Einführung des Katheters sichtbar blieb, konnte man aus seinem Füllungszustand auf den des Tamponballons schließen und so den zur richtigen Aufblähung desselben nötigen Druck entsprechend regulieren. Eine während des Versuchs plötzlich eingetretene Undichtigkeit des den Bronchus abschließenden, spindelförmigen Ballons hätte zu einem Schrumpfen des Signalballons führen und so den mangelhaften Abschluß des Alveolarlumens nach außen anzeigen müssen. Übrigens bewiesen auch stets die mit den Atemphasen parallel gehenden Schwankungen

und das schließliche Versiegen des dem absaugenden Glasrezipienten entströmenden Wasserstrahls die Dichtigkeit des Bronchialabschlusses.

Konnte keine Alveolarluft mehr aspiriert werden, so wurde der Katheter abgeklemmt, die Klemme des zum Tamponballon führenden Schlauches gelüftet und damit der Abschluß des Bronchus nach außen wieder aufgehoben. Neben dem wieder zusammengefallenen Tamponballon konnte frische Luft einstreichen und die durch die Aspiration etwas kolabierten Alveolen wieder blähen, bis nach neuerlichem Verschluß des Bronchus ein zweitesmal Lungenluft aspiriert wurde. Dieses Verfahren wurde fortgesetzt, bis eine zur volumetrischen Analyse genügende Gasmenge gewonnen worden war.

Nicht wenige Versuche mußten verworfen werden, weil die Tiere z. B. eines sie reizenden, zähen Schleimpfropfens wegen nicht vollkommene Ruhe bewahrten. Aus dem gleichen Grunde mußten manche Versuche frühzeitig abgebrochen werden, ohne daß zu einer Doppelanalyse genügend Gas hätte gewonnen werden können.

Im allgemeinen aber lagen die Tiere während des ganzen Aktes der Luftentnahme ganz ruhig, ohne irgendwelche Abwehrbewegungen zu machen. Geringe lokale Cocainisierung durch vorherige Benetzung des Tamponkatheders mit 5 bis $10^{0}/_{0}$iger Cocainlösung genügte, um den Hustenreflex binnen 1 bis 2 Minuten zu unterdrücken. Die Gasanalyse erfolgte am Zuntz-Geppertschen Apparat.

Alles Nähere über die Versuchsanordnung ist aus den Tabellen zu ersehen.

Versuche.

Es folgen im Zusammenhang einige Versuche, aus denen sich dann leicht die wichtigen Punkte zur Besprechung der aufgeworfenen Frage herausheben lassen werden. Um diesen Stoff übersichtlicher und weniger schwerfällig zu gestalten und um Raum zu sparen, wurden von den vielen zur Toleranzprüfung angestellten Vorversuchen nur eben die beiden letzten zur endgültigen Fixierung der Assimilationsgrenze führenden eingeschaltet; überdies wurden häufig die Zuckerwerte mehrerer einzeln gewonnener und analysierter Harnportionen zu einer Ziffer zusammengezogen.

Tabelle I.

Hund Nr. 1, ♂.

Versuchsperiode	Zeit	Gewicht g	Verabreicht (Glucose) absolut	Verabreicht (Glucose) pro kg Tier g	Harnmenge ccm	Harnzucker red. mg	Harnzucker vergärt	Blutzucker ‰	Bemerkungen
I. Periode: Toleranzbestimmung	14.XII. 8^{15}	7100	46,15 g auf 200 ccm H_2O	6,5					
	9^{45}				3,5	33,25	schw.+		
	10^{45}				4,5	57,60			
	12^{45}				3,5	56,50			
	2^{15}				5,0	55,75			
	4^{00}				4,0	38,00			
	15.XII. 8^{00}				29,0	275,00			
	17.XII. 8^{45}	6800	40,8 g auf 200 ccm H_2O	**6,0**					
	10^{15}				10,0	Spuren	**0**		
	11^{45}				4,0	"	0		
	1^{30}				7,0	"	0		
	2^{45}				7,0	"	0		
	4^{15}				7,5	0	0		
	28.XII. 9^{00}	7000	50 ccm H_2O						
	9^{15}		25 ccm H_2O						
	9^{30}		31,5 g + 125 ccm H_2O	**4,5**					
	11^{00}				6,0	0	0		
	11^{45}							**1,07**	Blutentnahme 28 ccm + 9 ccm. Dabei Blutverlust.
	12^{30}				8,0	0			
	2^{00}				10,0	0			
	3^{30}				8,0	0			
	29.XII. 8^{00}				32,0	0			
									Vom 31. XII. an Hunger, bei $^1/_2$ l Rindsuppe tägl.
II. Periode: Hungerdiabetes — 1. Unbeeinflußt	8. I. 7^{35}	5400	50 ccm H_2O						
	7^{50}		25 ccm H_2O						
	8^{05}		18,9 g Zucker auf 125 ccm H_2O	**3,5**					
	9^{35}				5,0	**93,00**			
	11^{10}				2,0	**78,20**			
	12^{40}				16,0	**251,50**			
	2^{20}				8,0	**100,00**			
	4^{00}				20,0				Spontan uriniert.
	4^{00}				6,0				
	9. I. 8^{00}				20,0				
	10. I. 8^{30}	5500	50 ccm H_2O						
	8^{45}		25 ccm H_2O						
	9^{00}		19,25 g Zucker auf 125 ccm H_2O	**3,5**					
	10^{30}				8,0	**100,00**			
	11^{00}							**1,41**	Blutentnahme 14 ccm.
	12^{00}				6,0	**94,20**			
	1^{30}				3,0	0			
	3^{00}				10,0	0			
	11. I. 8^{00}				24,2	0			

Tabelle I (Fortsetzung).

Versuchsperiode	Zeit	Gewicht g	Verabreicht (Glucose) absolut	Verabreicht (Glucose) pro kg Tier g	Harnmenge ccm	Harnzucker red. mg	Harnzucker vergärt	Blutzucker ‰	Bemerkungen
II. Periode: Hungerdiabetes. 2. Bei Alkalizufuhr	13. I.								2 g $CaCO_3$ + 2 g Na_2CO_3.
	14. I. 7^{30}	5000	1 g Na_2CO_3 in 25 ccm H_2O						
	8^{00}		2 g „ „ 50 „ „						
	8^{15}		3 g „ +17,5 g Zuck. in 125 ccm H_2O	3,5					
	9^{45}				22,0	154,0	0		
	11^{15}				36,0	0			
	12^{45}				60,0	0			
	15. I. 8^{00}	4750			120,0	0			
	5^{00}								1 g $CaCO_3$ + 1 g Na_2CO_3.
	16. I. 9^{00}		1 g Na_2CO_3 a. 50 ccm H_2O						
	9^{30}		1 g „ „ 25 „ „						
	9^{45}		2 g „ +16,62 g Zuck. auf 125 ccm H_2O	3,5					
	11^{15}				13,0	+?	0		
	11^{45}							1,05	Blutentnahme 28 ccm + 9 ccm.
	12^{45}				ca. 1,0	0			
	2^{15}				13,0	0			
	3^{45}				5,0	0			
	5^{15}				20,0	0			
	17. I. 8^{00}				206,0	0			
3. Ohne Alkali	18. I. 1^{30}	4600	1 g NaCl auf 25 ccm H_2O						
	2^{00}		2 g „ „ 50 „ „						
	2^{15}		3 g „ +16,1 g Zucker auf 125 ccm H_2O	3,5					
	3^{45}				22,0	418,0			
	4^{15}							1,32	Blutentnahme 25 ccm + 9 ccm.
					150,0	2355,0			Spontan uriniert.
	5^{45}				20,0	186,0			
	7^{15}				100,0	0			
	19. I. 8^{00}				120,0	0			

Tabelle II.

Hund Nr. 2, ♂.

Versuchsperiode	Zeit	Gewicht g	Verabreicht (Glucose) absolut	Verabreicht (Glucose) pro kg Tier g	Harnmenge ccm	Harnzucker red. mg	Harnzucker vergärt	Blutzucker ‰	Bemerkungen
I. Periode: Toleranzbest.	8. X. 8^{15}	6400	44,8 g auf 200 ccm H_2O	7,0		0			
	9^{45}				28,0	schw. +	0		
	11^{45}				112,0	0	0		
	10. X. 9^{30}	6260	46,9 g auf 200 ccm H_2O	7,5		0			
	11^{00}				18,0	ca. 369,00	++		

Tabelle II (Fortsetzung).

Versuchsperiode	Zeit	Gewicht g	Verabreicht (Glucose) absolut	pro kg Tier g	Harnmenge ccm	Harnzucker red. mg	Harnzucker vergärt	Blutzucker ‰	Bemerkungen
I. Periode: Toleranzbestimmung	10. X. 12^{30}				38,0	90,25	0		
	2^{00}				90,0	539,10			
	3^{30}				41,0	+	0		
	14. X. 8^{30}	6200	34,1 g auf 200 ccm H_2O	5,5		0			
	10^{00}				28,0	0	0		
	10^{25}								25 ccm Blut entnommen. Best. verdorben.
	15. X. 8^{00}				50,0	0	0		
	22. X. 8^{00}	6970	38,33 g auf 200 ccm H_2O	**5,5**					
	9^{30}				18,0	0			
	10^{00}							**1,95**	22 ccm Blut entnommen.
									Vom 25. X. an täglich nur $^1/_2$ Liter Rindsuppe.
II. Periode: Hungerdiabetes. 1. Unbeeinfl.	1. XI. 9^{00}	6100	33,55 g auf 200 ccm H_2O	**5,5**					
	10^{30}				13,0	**43,64**			
	11^{00}							**3,10**	25,8 ccm Blut entnommen.
	12^{00}				10,0	**166,15**			
	2. XI. 8^{00}				200,0	**346,30**	+		
2. Bei Alkalizufuhr			intravenös						
	3. XI. 8^{45}	5600	100 ccm 4%ige **Na_2CO_3**-Lösung + 1 g $NaHCO_3$						
	10^{00}		30,8 g Z. auf 100 ccm H_2O	**5,5**		0			
	11^{30}				18,5	**165,10**			
	12^{00}							**3,05**	22,4 ccm Blut entnommen.
	1^{00}				41,0	0			
	4^{00}				30,0	0			
	4. XI.		5 g Soda in die Suppe						
	5. XI. 8^{20}	5500	2 g Na_2CO_3 auf 50 ccm H_2O						
	8^{50}		1 g Na_2CO_3 auf 25 ccm H_2O						
	9^{05}		30,25 g Zucker + **3 g Na_2CO_3** auf 125 ccm H_2O	**5,5**		**0**			
	10^{00}								9 ccm (titriert = 305 mg Zucker) erbrochen.
	10^{30}				15,0	0	0		
	12^{30}				42,0	0	0		
	3^{30}				70,0	0			
	6. XI. 8^{00}				60,0	0			
3. Ohne Alkali	7. XI. 8^{00}	5500	50 ccm H_2O	**5,5**					
	8^{30}		30,25 g auf 150 ccm H_2O						
	10^{00}				4,0	**33,20**	++		
	11^{30}				3,0	**21,60**	++		
	1^{00}				6,0	**31,80**	++		
	8. XI. 8^{00}				36,0	**135,50**			

Tabelle III.

Hund Nr. 3, ♀. (10. II. Falksche Operation.)

Versuchsperiode	Zeit	Gewicht g	Verabreicht (Glucose) absolut	Verabreicht (Glucose) pro kg Tier g	Harnmenge ccm	Harnzucker red. mg	Harnzucker vergärt	Blutzucker ‰	Säurekapazität f. 100 ccm Blut, ber. in n/10-NaOH ccm	Bemerkungen
I. Periode: Toleranzbestimmung	18.XII. 8^{45}	6500	100 ccm H_2O							
	9^{00}		42,25 g Zucker auf 100 ccm H_2O	6,5						
	10^{30}				12,0	150				
	12^{00}				104,0	0				
	1^{30}				60,0	0				
	19.XII. 8^{00}				60,0	0				
	23.XII. 9^{00}	6500	50 ccm H_2O							
	9^{30}		25 „ „							
	9^{45}		35,75 g Zucker auf 125 ccm H_2O	5,5						
	11^{15}				5,0	0				
	11^{30}							1,32	28,0	Blutentnahme 21,5 ccm + 9 ccm.
	12^{45}				70,0	0				
	2^{15}				15,0	0				
	3^{45}				20,0	0				
	5^{15}				45,0	0				
	24.XII. 8^{00}				35,0	0				
										Vom 25. XII. an tägl. nur 1/2 l Rindsuppe.
II. Periode: **Hungerdiabetes** — **1. Unbeeinflußt**	3. I. 8^{15}	5500	25 ccm H_2O							
	8^{30}		50 „ „							
	9^{00}		30,25 g Zucker auf 125 ccm H_2O	5,5						
	10^{30}				44,0	**2350**				
	11^{30}							3,03	14,0	Blutentnahme 27 ccm + 9 ccm
	12^{00}				23,0	**2083**				
	1^{30}				30,0	**2121**				
	4^{00}				12,0	**125**				
	5^{30}				4,0	0				
	4. I. 8^{10}				45,0	0				
2. Bei Alkalizufuhr	5. u. 6. I.									Jeden Tag 2 g $CaCO_3$ + 2 g Na_2CO_3.
	7. I. 8^{45}	4950	1 g Na_2CO_3 auf 25 ccm H_2O							
	9^{15}		2 g Na_2CO_3 auf 50 ccm H_2O							
	9^{30}		3 g Na_2CO_3 + 27,22 g Z. auf 125 ccm H_2O	5,5						
	11^{00}				50,0	**1863,5**				
	11^{30}							2,41	17,2	Blutentnahme 20,2 ccm + 9 ccm.
	12^{30}				100,0	**1135,0**				
	2^{00}				41,0	**472,7**				
	3^{30}				14,0					
	8. I. 8^{00}				60,0					100 g Fleisch a. Zulage.
	9. I.									do.

Tabelle III (Fortsetzung).

Versuchsperiode	Zeit	Gewicht g	Verabreicht (Glucose) absolut	Verabreicht (Glucose) pro kg Tier g	Harnmenge ccm	Harnzucker red. mg	Harnzucker vergärt	Blutzucker ‰	Säurekapazität f. 100 ccm Blut, ber. in n/10-NaOH ccm	Bemerkungen
III. Periode: Hungerdiabetes geringeren Grades. 1. Unbeeinflußt	13. I. 9^{45}	4600	50 ccm H_2O							
	10^{00}		20,7 g Zucker auf 150 ccm H_2O	4,5						
	11^{30}				26,0	751,4				
	12^{00}							1,94	20,8	Blutentnahme 23 ccm + 9 ccm.
	1^{00}				44,0	550,0				
	3^{00}				20,0	0				
2. Bei Alkalizufuhr	14. I. 8^{00}	4500			140,0	0				2 g $CaCO_3$ + 2 g Na_2CO_3.
	15. I. 8^{30}		25 ccm H_2O + 1 g Na_2CO_3							
	9^{00}		50 ccm H_2O + 2 g Na_2CO_3							
	9^{15}		20,25 g Zucker + 3 g Na_2CO_3 in 125 ccm H_2O	4,5						
	10^{45}				23,0	503,0				
	11^{15}							1,43	30,5	Blutentnahme 26,7 ccm + 9 ccm.
	12^{15}				60,0	650,0				
	1^{30}				68,0	340,0	∅		0	Spontan uriniert.
	1^{45}				17,0	0			0	
	3^{15}				29,0	0				
3. Ohne Alkali	16. I. 8^{00}	4250			30,0	0				
	9^{00}		1 g NaCl auf 25 ccm H_2O							
	9^{30}		2 g NaCl auf 50 ccm H_2O							
	9^{45}		3 g NaCl + 19,12 g Z. auf 125 ccm H_2O	4,5						
	11^{15}				38,0	1185,5				
					90,0	1822,0				Spontan uriniert.
	12^{45}				33,0	306,9				
	2^{15}				10,0	0				
	3^{45}				8,0	0				
	17. I. 8^{00}				62,0	0				

Tabelle IV. 1. Teil.
Hund Nr. 4, ♂.

Versuchsperiode	Zeit	Gewicht g	Verabreicht (Glucose) absolut	Verabreicht (Glucose) pro kg Tier g	Harnmenge ccm	Harnzucker red. mg	Harnzucker vergärt	Blutzucker ‰	Bemerkungen
I. Periode: Toleranzbestimmung	9. X. 9^{10}	9600	67,2 g auf 200 ccm H_2O	7,0		0			
	10^{40}				98,0	0			
	12^{10}				53,0	Spuren	0		
	10. X. 9^{00}				174,0	„	0		

Tabelle IV. 1. Teil (Fortsetzung).

Versuchsperiode	Zeit	Gewicht g	Verabreicht (Glucose) absolut	pro kg Tier g	Harnmenge ccm	Harnzucker red. mg	Harnzucker vergärt	Blutzucker ‰	Bemerkungen
I. Periode: Toleranzbestimmung	11. X. 8^{15}	9700	72,75 g auf 200 ccm H_2O	7,5					
	9^{45}				29,0	393,9			
	11^{15}				71,0	284,0			
	12^{45}				135,0				
	12. X. 8^{00}				116,0				
	19. X. 8^{05}	9500	52,25 g auf 200 ccm H_2O	**5,5**		0	0		
	9^{35}				?	0	0		
	10^{00}							**1,29**	21,1 ccm Blut entnommen.
	11^{35}				13,0	Spuren	0		
	12^{35}				43,0	0	0		
									Vom 22. X. an täglich nur 1/2 l Rindsuppe.
II. Periode: Hungerdiabetes. 1. Unbeeinfl.	29. X. 8^{25}	8200	45,10 g auf 200 ccm H_2O	**5,5**					
	9^{55}				13,0	**108,0**	+		
	10^{30}							**2,83**	26 ccm Blut entnommen.
	2^{30}				28,0	**634,2**			
	30. X. 8^{00}				88,0	**766,9**			
II. Periode: Hungerdiabetes. 2. Bei Alkalizufuhr	4. XI. 8^{30}	7550	2 g **Na_2CO_3** auf 50 ccm H_2O						
	8^{45}		1 g **Na_2CO_3** auf 25 ccm H_2O						
	9^{15}		41,52 g Zucker + 3 g Na_2CO_3 auf 125 ccm H_2O	**5,5**					
	10^{45}				19,0	**0**			
	12^{00}				28,0	0			
	1^{30}				38,0	0			
	3^{30}				14,0	0			
	5. XI. 8^{00}				47,0	0			
	6. XI.	7420	40,7 g Zucker auf 250 ccm Wasser	5,5		0			Hund fast tot. Versuch nicht durchzuführen.

Tabelle IV. 2. Teil.

Hund Nr. 4, ♂.

(Nach doppelseitiger Splanchnikotomie und Exstirpation des Ganglion coeliacum am 20. XII. 12.)

Versuchsperiode	Zeit	Gewicht g	Verabreicht (Glucose) absolut	pro kg Tier g	Harnmenge ccm	Harnzucker red. mg	Harnzucker vergärt	Blutzucker ‰	Säure-Bindungsvermögen v. 100 ccm Blut i. n/10-NaOH ccm	Bemerkungen
I. Periode: Toleranzbestimmung	5. I. 8^{15}	10200	50 ccm H_2O							
	8^{45}		96,9 g auf 150 ccm H_2O	9,5						
	9^{15}				14,0	0				
	11^{45}				13,0	0				

Tabelle IV. 2. Teil (Fortsetzung).

Versuchsperiode	Zeit	Gewicht	Verabreicht (Glucose) absolut	Verabreicht (Glucose) pro kg Tier	Harnmenge	Harnzucker red.	Harnzucker vergärt	Blutzucker	Säure-Bindungsvermögen v. 100 ccm Blut i. $^n/_{10}$-NaOH	Bemerkungen
		g		g	ccm	mg		‰	ccm	
I. Periode: Toleranzbestimmung	6. I. 8^{00}				74,0	0				
	9. I. 8^{30}	10000	105 g auf 200 ccm H_2O	10,5						
	10^{00}				4,0	29,2				
	11^{30}				6,0	133,8				
	12^{40}				8,0	74,4				
	2^{20}				10,0	0				
	10. I. 8^{00}				40,0	0				
	13. I. 10^{00}	9750	92,62 g auf 200 ccm H_2O	**9,5**						
	11^{30}				2,0					
	12^{00}							**1,84**	**23,5**	Blutentnahme 28,5 ccm + 9 ccm.
	1^{00}				4,0	0				
	14. I. 8^{00}				137,0	0				
										Vom 16. I. an täglich nur $^1/_2$ l Rindsuppe.
II. Periode: **Hungerdiabetes**	23. I. 8^{00}	8800	75 ccm H_2O							
	8^{30}		74,8 g auf 200 ccm H_2O	8,5						
	24. I. 8^{00}				214,0	0				
	25. I. 2^{15}	8700	75 ccm H_2O							
	2^{45}		82,65 g auf 200 ccm H_2O	9,5						
	4^{15}				10,0	+	0			
	4^{45}				52,0	+	0			
	26. I. 8^{00}				260,0	+?				
	28. I. 8^{00}	8300	75 ccm H_2O							
	8^{20}		78,85 g auf 200 ccm H_2O	**9,5**						
	9^{50}				3,0	+				
	10^{15}							> **3,01** (etw. verspritzt)	**6,8**	Blutentnahme 16 ccm + 9 ccm.
	1^{00}				5,0	**124,3**	++			
	2^{30}				5,0	**78,0**	++			
	4^{00}				10,0	**125,0**	++			
	5^{30}				90,0	**549,0**				
	29. I. 8^{00}				80,0	0				

Tabelle V. 1. Teil.

Hund Nr. 5, ♀. (Nachmittags gefüttert.)

Versuchsperiode	Zeit	Gewicht g	Verabreicht (Glucose) absolut	Verabreicht (Glucose) pro kg Tier g	Harnmenge ccm	Harnzucker red. mg	Harnzucker vergärt	Blutzucker ‰	Säurekapazität f. 100 ccm Blut, ber. in n/10-NaOH ccm	Bemerkungen
I. Periode: Toleranzbestimmg. am normalen Tiere	24. II. 10^{45}	4300	50 ccm H_2O							
	11^{15}		25,8 g Zucker auf 150 ccm H_2O	6,0						
	12^{45}				12,0	562,0				
	2^{15}				22,0	345,0				
	3^{45}				44,0	0				
	25. II. 8^{00}				81,0	0				
	26. II. 9^{45}	4300	50 ccm H_2O							
	10^{15}		19,35 g Zucker auf 150 ccm H_2O	4,5						
	11^{45}				25,0	0				
	1^{15}				65,0	0				
	27. II. 8^{00}				120,0	0				Hungert v. I. III. bei 0,3 l Rindsuppe.
II. Periode: Hungerdiabetes am normalen Tiere	6. III. 8^{15}	3850	50 ccm H_2O							
	8^{45}		15,4 g Zucker auf 150 ccm H_2O	4,0						
	10^{15}				1,0	+				
	10^{45}							2,60	19,4	Blutentnahme 21 ccm + 9 ccm.
	11^{45}				8,0	239,0				
	1^{15}				23,0	214,0				
	2^{45}				36,0	0				
	7. III. 8^{00}				53,0	0				Von jetzt an regulär gefüttert.

Tabelle V. 2. Teil.

(11. III. doppelseitige Splanchnikotomie und Exstirpation des Ganglion coeliacum.)

Versuchsperiode	Zeit	Gewicht g	Verabreicht (Glucose) absolut	Verabreicht (Glucose) pro kg Tier g	Harnmenge ccm	Harnzucker red. mg	Harnzucker vergärt	Blutzucker ‰	Säurekapazität f. 100 ccm Blut, ber. in n/10-NaOH ccm	Bemerkungen
III. Periode: Toleranzbestimmung am splanchnikotomierten Tiere	15. III. 9^{00}	4300	34,4 g Zucker auf 200 ccm H_2O	8,0						
	10^{30}				6,0	56,0				
	12^{00}				5,0	76,0				
	1^{30}				4,0	27,0				
	3^{00}				8,0	0				
	16. III. 8^{00}				38,0	0				
	17. III. 9^{00}	4150	29,05 g Zucker auf 200 ccm H_2O	7,0						
	10^{30}				16,0	0				
	11^{00}							1,86	33,2	Blutentnahme 26,9 ccm + 9 ccm.
	12^{00}				10,0	0				
	18. III. 8^{00}				58,0	0				Hungert vom 18. III. b. 0,3 l Rindsuppe.
IV. Periode: Hungerdiabetes b. splanchnikotomierten Tiere	22. III. 8^{45}	3700	24,05 g Zucker auf 200 ccm H_2O	6,5						18. III. u. z. T. 19. III. Fieber. Eiterung d. Bauchwunde.
	10^{15}				5,0	333,0				
	10^{30}							5,48	12,5	Blutentnahme 26,1 ccm + 9 ccm.
	11^{45}				30,0	1889,0				
	1^{15}				12,0	469,0				
	23. III. 8^{00}				71,0	660,0				

Tabelle VI.
Hund Nr. 6, ♀. (Nachmittags gefüttert.)

Versuchsperiode	Zeit	Gewicht g	Verabreicht (Glucose) absolut	Verabreicht (Glucose) pro kg Tier g	Harnmenge ccm	Harnzucker red. mg	Harnzucker vergärt	Blutzucker ‰	Säurekapazität f. 100 ccm Blut, ber. in n/10-NaOH ccm	Bemerkungen
I. Periode: Toleranzbestimmung	28. II. 10^{15}	3400	50 ccm H_2O							
	10^{45}		27,2 g Z. a. 150 ccm H_2O	**8,00**						
	12^{15}				12,0	**0**				
	1^{45}				52,0	0				
	1. III. 8^{00}				87,0	0				
	3. III. 10^{15}	3000	50 ccm H_2O							
	10^{45}		27 g Z. a. 150 ccm H_2O	9,00						
	12^{15}				14,0	640,00				
	1^{45}				8,0	123,00				
	3^{15}				16,0	189,00				
	4^{45}				9,0	0				
	7. III. 8^{00}				42,0	0				Hungert v. 6. III. u. erhält 0,3 l Rindsuppe.
II. Periode: Hungerdiabetes — 1. Unbeeinflußt	10. III. 2^{00}	3000	50 ccm H_2O							
	2^{15}		24 g Z. a. 150 ccm H_2O	**8,00**						
	3^{45}				8,0					
	4^{00}								**11,2**	Blutentnahme 16,7 ccm + 9 ccm.
	5^{15}				5,0	**155,00**				
	6^{45}				9,0	**209,00**				
	11. III. 8^{00}				80,0	**744,00**				
	2^{15}	2850			8,0	0				
2. Intrav. NaCl-Lsg.	2^{45}—3^{05}		75 ccm physiol. **NaCl**-Lösung intravenös							
	3^{15}		19,95 g Z. a. 125 ccm H_2O	**7,00**						
	4^{45}				12,0	**510,00**				
	5^{15}							**3,06**	**11,1**	Blutentnahme 17,3 ccm + 9 ccm.
	6^{15}				9,0	**413,00**				
	7^{45}				20,0	**578,00**				
	12. III. 8^{00}				23,0	**288,00**				
3. Intravenös Alkali	13. III.	2800								
	8^{55}—9^{15}		75 ccm 4%ige **Na_2CO_3**-Lösung intravenös							
	9^{15}		20,3 g Z. a. 125 ccm H_2O	**7,25**						
	10^{45}				16,0	**256,16**				
	11^{00}							**1,48**	**26,3**	Blutentnahme 28,7 ccm + 9 ccm.
	12^{15}				<0,5	+				
	1^{45}				28,0					
	14. III. 8^{00}				31,0					
	12^{00}		50 ccm Milch							Weil s. schwach.
4. Intrav. NaCl-Lsg.	15. III.	2700	75 ccm physiol. **NaCl**-Lösung intravenös							
	8^{40}—9^{00}									
	9^{00}		18,9 g Z. a. 125 ccm H_2O	7,00						
	10^{30}				17,0	**838,00**				
	10^{45}							**3,63**	**8,3**	Blutentnahme 22,2 ccm + 9 ccm.
	12^{00}				7,0	**369,00**				
	1^{30}				5,0	**474,00**				Exitus!

Tabelle VII.

Es haben also Zucker im Harne ausgeschieden:

	Vor dem Hungerdiabetes	Im Hungerdiabetes					
		vor Alkalizufuhr		bei Alkalizufuhr		darauf ohne Alkali	
		Zuckergabe		Zuckergabe		Zuckergabe	
		gleich mg	verringert mg	gleich mg	gesteigert mg	gleich mg	verringert mg
Hund Nr. 1 . . .	0	—	522; 194	0; 0	—	2959	—
„ „ 2 . . .	0	556	—	165 (Alkali per ven.); 0	—	222	—
„ „ 3 . . .	0	6679	—	3470	—	—	—
„ Nr. 3 b. Hungerdiab. ger. Grad.	—	—	1301	1153	—	3313 (Salzzulage)	—
Hund Nr. 4 . . .	0	1508	—	0	—	—	—
„ Nr. 4 splanchnikotomiert .	0, 0	876	—	—	—	—	—
„ Nr. 5	0	—	453	—	—	—	—
„ „ 5 splanchnikotomiert .	0	—	3351	—	—	—	—
„ Nr. 6	0	1108	1789 (NaCl-Lsg. per ven.)	—	ca. 256 (Alkali per ven.)	—	1681 (NaCl-Lsg. per ven.)

Besteht im Hungerzustande des Hundes eine Säuerung des Organismus?

Untersuchungen über die Reaktionsverhältnisse des Blutes im Hungerzustand wurden bereits im Jahre 1896 angestellt.

In dem Jahre hat London[1]) mittels Titrationsmethode an Kaninchen im Durchschnitt eine Abnahme der Alkalien im Blut gefunden, und zwar im Maximum ein Absinken von 0,32 auf 0,28% NaOH.

Von Wesselkin[2]) abgesehen, der ebenfalls eine zunehmende Säuerung bei „mineralischem Hunger“ konstatieren konnte, finden sich mit der schönen Gaskettenmethode einmal im Blut, einmal im Serum bestimmte und darum nur ungefähr vergleichbare Werte am Hungerhund bei M. Polányi[3]) und Fr. Rolly[4]), die hier angeführt sein mögen.

H-Ionen-Konzentrationen.

M. Polányi, Hund II nüchtern $1{,}0 \times 10^{-7}$, hungernd $3{,}2 \times 10^{-7}$
„ III „ $1{,}1 \times 10^{-7}$, „ $1{,}9 \times 10^{-7}$, $2{,}05 \times 10^{-7}$
Fr. Rolly, „ I nach 1 Hungertag $0{,}2759 \times 10^{-7}$
nach 8 Hungertagen $0{,}4184 \times 10^{-7}$

[1]) Arch. d. Sciences biolog. de St. Petersbourg **4**, 5, 523; zit. Maly **26**, 215 und Centralbl. f. Physiol. **1896**, 858.
[2]) Zit. nach d. biol. Centralbl. **3**, S. 107 u. 191.
[3]) Diese Zeitschr. **34**.
[4]) Münch. med. Wochenschr. **1912**, Nr. 22, S. 1203.

I. Untersuchungen auf titrimetrischem Wege.

Gerade die zum Teil so starken Ausschläge, die sich mit dieser einwandfreien Methode bei 3 Tieren ergeben hatten, ließen nähere Untersuchungen dieser Frage recht aussichtsreich erscheinen, und so sollten zunächst diese Verhältnisse nach der Methode von Spiro und Pemsel durch Titration der „nativen Alkalinität" geprüft werden. Es seien die Werte für das Säurebindungsvermögen des Blutes aus den voranstehenden Versuchen hier nochmals übersichtlich zusammengestellt, und zum Vergleich damit seien auch die Durchschnittswerte von Spiro und Pemsel hier beigefügt.

Tabelle VIII.

Bluttitrationswerte.

Tier	Nüchtern	In der Hungerperiode		
	Säurebindungsvermögen NaOH in 1 Liter mg	am n-ten Hungertag	nach einer Körpergewichtsabnahme in %	Säurebindungsvermögen NaOH in 1 Liter mg
Hund Nr. 3	112,0	8.	15,4	56,0
ders. bei geringem Hungerdiabetes	—	—	(28,7)	83,2
Hund Nr. 4 splanchnikotomiert .	94,0	13.	14,5	27,2
„ Nr. 5	—	6.	16,5	77,6
ders. splanchnikotomiert . .	132,8	5.	10,8	50,0
Hund Nr. 6	—	5.	16,6	44,8
ders. b. NaCl-Infus.	—	6.	20,8	44,4
ders. „ „ „	—	10.	25,0	33,2
	Im Mittel: 112,8			Im Mittel: 52,0

Nach Analysen von Spiro und Pemsel.

„Native Alkalinität" von Schweineblut im Mittel	(T. VII)	148,1	mg NaOH
„ „ „ Rinderblut „ „	(T. VII)	143,1	„ „
„ „ „ Hammelblut „ „	(T. VII)	117,3	„ „
„ „ „ Pferdeblut „ „	(T. VII)	158,4	„ „
„ „ „ Hundeblut	(T. VII)	130,4	„ „
„ „ „ Kaninichenblut (normal)	(T. VII)	169,0	„ „
„ „ „ „ (mit Säure vergiftet)		78,0[1]	„ „

Wie aus den Tabellen ersichtlich ist, stimmen unsere Werte an normalen Hunden mit den von Spiro und Pemsel gefundenen recht gut überein und ganz besonders gut mit seiner

[1]) Die zwei letzten Werte sind der Arbeit von Spiro: „Beiträge zur Lehre von der Säurevergiftung bei Hund und Kaninchen" entnommen. Beiträge z. chem. Physiol. u. Pathol. 1, S. 273.

Analyse des Hundeblutes. Diese Übereinstimmung wird noch vollkommener, wenn wir den splanchnikotomierten Hund Braun, der doch wohl nicht ganz als Normaltier gelten darf, aus dem Kalkül lassen. Dann steht Spiros Wert von 130,4 unserem Durchschnittswert 122,4 gegenüber.

Die Hungerwerte zeigen im Durchschnitt deutlich ein Sinken unter die Hälfte des Normalen (52,0: 112,8), ebenso wie das mit saurem Natriumphosphat vergiftete Kaninchen von Spiro mehr als die Hälfte seiner nativen Alkalinität eingebüßt hat. Der Wert von 169 mg NaOH war auf 78,0 gesunken. Daraus erhellt zur Genüge, daß der Hunger zu einer ganz bedeutenden Alkaliabnahme des Tieres führt uud daß der Hunger gerade das wirksame Moment bei der Entstehung der Säuerung ist, beweist die stete Zunahme der Säuerung bei höherer Intensität des Hungerdiabetes (vgl. Hund Nr. 3 und weiter unten Hund Nr. 7).

Es sei hier vollkommen davon abgesehen, die Alkaliwerte auf CO_2-Werte umzurechnen und so eine Beziehung zwischen der Säuerung im Hungerzustand und der experimentellen Säuerung herzustellen. Jeder Vergleich auf Grund einer solchen Umrechnung würde außerordentlich unvollkommen sein, da die bestimmte Alkalinität durchaus nicht nur durch die an CO_2 gebundenen Alkalien bedingt ist (Biphosphate, Eiweiß!) und überdies jede Titrierungsmethode im Blute sich in den Resultaten ein wenig von den anderen unterscheidet. Da fast jede Methode der Reaktionsbestimmung im Blute eine andere Bedeutung hat, lassen sich naturgemäß auch nur nach ein und derselben Methode gewonnene Werte miteinander vergleichen.

Die von uns in Anwendung gezogene Methode von Spiro und Pemsel gehört wohl neben der Krausschen zu den besten, die das verfügbare Alkali im Blute bestimmen. Und gerade dieses Säuerungsbindungsvermögen war es, das uns interessieren mußte. Es konnte ja sehr wohl der Ausgleich zwischen der entstandenen sauren Substanz und dem vorhandenen Regulator (Karbonate, Phosphate, Eiweiß) sich so vollkommen vollzogen haben, daß die tatsächliche Reaktion des Blutes, die Wasserstoffionenkonzentration gleich geblieben war, und doch mußte dann die einer weiteren Säuerung des Blutes sich entgegensetzende, verfügbare Alkalimenge abgenommen haben. In dem

gedachten Falle hätte die moderne, souveräne Methode der Gasketten keine Reaktionsveränderung gezeigt, die verwendete Titrierungsmethode hingegen einen Ausschlag gegeben.

Während also in dieser Beziehung die Titrationsmethode mit größerer Sicherheit eine Verschiebung in der Säure- und Alkaliverteilung des Blutes im Normal- und Hungerzustand anzeigen mußte, so hatte man sich doch stets vor Augen zu halten, daß der Wert der titrierbaren Alkalinität ebensowenig mit der physiologischen Alkalinität wie nach dem oben Gesagten mit der wahren Alkalinität identisch ist. „Es muß betont werden, daß wahre Alkalinität (Konzentration der OH-Ionen), physiologisches Neutralitätsvermögen (der normale Mechanismus) und titrierbare Alkalinität, abgesehen von dem Indicator, im selben Sinne, aber ganz ohne Proportionalität, variieren.“ (Henderson)[1]).

II. Untersuchungen auf gasanalytischem Wege.

Wegen der vielleicht später einmal zu behandelnden Frage der physiologischen, ev. regulatorischen Wechselbeziehungen zwischen intermediär entstehenden Säuren und der Höhe des Blutzuckerniveaus schien uns die Feststellung der Reaktionsverschiebung des Hundeblutes im Hungerzustand uns wichtig genug, um sie noch ein zweites Mal mit einer anderen Methode zu versuchen. Da hätte natürlich die Wahl zunächst auf die Gaskettenmethode als die objektivste und genaueste fallen müssen, doch gerade diese zeigt selbst bei tödlicher Säurevergiftung einen verhältnismäßig kleinen Ausschlag. Wie verschwindend gering sind dagegen die Reaktionsverschiebungen, auf die das Respirationszentrum mit Überventilation und gesteigerter Abgasung der Kohlensäure in der Lunge antwortet[2]). Dieser dem physiologischen Organismus gewissermaßen selbst entnommene Reaktionsmesser schien uns auch für unsere Zwecke der geeignetste. Es war ja von vornherein nicht anzunehmen, daß die beim Kohlenhydratstoffwechsel in Betracht kommenden Zellen auf regulierende Verschiebungen von Säure und Alkali in der sie umspülenden Flüssigkeit weniger emp-

[1]) Das Gleichgewicht zwischen Basen und Säuren im tierischen Organismus. Ergebnisse der Physiologie 8. Jahrg., S. 308.

[2]) Vgl. Porges, Leimdörfer und Markovici, Zeitschr. f. klin. Med. 73, H. 5 und 6. Daselbst ausführliche Literaturangaben.

findlich sein sollten als die Zellen des Atmungszentrums, noch auch daß sich diese Zellen durch den Hungerzustand in ihrer Erregbarkeit in bemerkenswerter Weise verändert hätten. Und so verwendeten wir gewissermaßen das Atemzentrum als Indicator, indem wir uns der Methode von Wolffberg[1]) in einer etwas modifizierten Form bedienten.

Sie bestimmt bekanntlich die Kohlensäurespannung des venösen Blutes der Lungenarterie, indem sie die geschlossene Alveolarluft, die sich in kurzer Zeit mit diesem Blute ins Gleichgewicht gesetzt hat, zur Analyse bringt. Die Kohlensäurespannung

Tabelle IX.

Hund Nr. 8. ♂ alt.

Versuchsperiode	Gewicht g	CO_2-Spannung der geschlossenen Alveolarluft: Doppelbestimmung %	CO_2-Spannung der geschlossenen Alveolarluft: Mittelwert %	Bemerkungen
Vorperiode: gemischte Kost				
1. Versuch	—	4,96	4,75	
2. „	—	4,30		
3. „	—	4,79		
4. „	13 000	4,94		
Hungerperiode: 0,5 l Bouillon				
1. Teil. 2. Tag	—	5,11	4,54	
3. „	12 200	4,47		
4. „	12 000	3,73		
5. „	11 600	4,59		
7. „	11 500	4,43		
9. „	11 200	4,62		
11. „	11 100	4,45		
13. „	10 600	4,91		
16. „	10 400	[4,10]		1 1/2h zuvor 100 ccm n/4-HCl per os
2. Teil. 17. „	—	5,12	4,16	
18. „	10 100	4,40		
20. „	9 800	4,24		
24. „	9 200	3,55		
25. „	9 100	4,19		
28. „	8 950	3,37		
30. „	8 700	4,25		
Nachperiode: reichl. gem. Kost				
2. Tag	10 900	6,19	5,85	
3. „	10 300	5,23		
4. „	11 200	5,35		
6. „	11 800	6,65		

[1]) Arch. f. d. ges. Physiol. 4, 465 und 6, 23.

Tabelle X.

Hund Nr. 7. ♀ jung.

Versuchsperiode	Gewicht g	CO_2-Spannung in der gegeschlossenen Alveolarluft: Doppel-Analyse %	Einfache Analyse %	Mittelwert[1] %	Bemerkungen
Vorperiode: gem. Kost					
1. Versuch	8300	—	4,12		
2. „	8350	4,47	—		
3. „	8400	4,79	—	4,21	
4. „	8350	3,80	—		
5. „	8400	—	4,51		
6. „	8400	3,70	—		
Hungerperiode: 0,3 l Bouillon					
1. Tag	8300	—	4,34	1. Woche	
3. „	7600	4,10	—	4,22	
4. „	7450	—	4,34		
8. „	7000	4,18	—		
9. „	6850	4,45	—		
10. „	6700	[4,12]	—	2. Woche	Am 10. Hungertag: 1h 45' vor d. Veratmung 6 g Dextrose pro kg Tier per os; in 82 ccm Harn 1,95 g Zucker ausgeschieden.
13. „	6550	—	2,81	3,63	
14. „	6500	2,68	—		Vertiefte Atmung, außerordentlich hinfällig.
Nachperiode: reichlich gemischte Kost					
1. Tag	7000	5,12	—		
2. „	7300	6,15	—		
4. „	7600	4,65	—	5,53	
6. „	7900	6,23	—		
7. „	8100	5,64	—		
9. „	8700	5,37	—		

sinkt aber nach dem oben Gesagten mit abnehmender Alkalinität des Blutes ab, so daß der Kohlensäuregehalt der geschlossenen Alveolarluft einen Maßstab für die natürliche Alkalinität des Blutes darstellt. Die auf diese Weise an Hunden im normalen und Hungerzustand gewonnenen Kohlensäurewerte seien hier angeführt. (Tabelle IX und X.)

Die hier für den normalen Hund erhaltenen Mittelwerte erscheinen höher als die von Wolffberg (3,6%) und von Nußbaum (3,8%)[2] für den Hund festgestellten, niedriger als die von A. Löwy und H. v. Schrötter[3]) für den Menschen be-

---

[1]) Bei der Bestimmung dieses Mittelwertes wurden je zwei durch einfache Analyse erhaltene Werte wie ein Wert einer gut stimmenden Doppelbestimmung berechnet.

[2]) Arch. f. d. ges. Physiol. 7, 296.

[3]) Zeitschr. f. experim. Pathol. u. Therap. 1, 197.

stimmten CO_2-Werte. (4 bis ca. 8 %, durchschnittlich 6 %). Die technischen Fehler der älteren Methodik dürften eben unserem Verfahren kaum anhaften, da wir die Überventilation vermieden haben, die durch die frisch gemachte Tracheotomie und durch den die nicht anästhesierte Schleimhaut reizenden Katheter hervorgerufen wird.

Was die zeitliche Anordnung der Versuche betrifft, so ist nach einer Vorperiode bei gemischter Kost die Hunger-Periode angeordnet, der wieder eine Nachperiode bei gemischter Kost folgt.

In die Hunger-Periode sind 2 Kontrollversuche eingeschaltet: Um sich eine Vorstellung von der Reaktionsverschiebung im Blut durch eine Überschwemmung des Organismus mit Zucker bilden zu können, wurde beim jüngern Hund Nr. 7 am 10. Hungertag eine über seine Toleranz hinausgehende Zuckermenge verfüttert. Ein Absinken der CO_2-Spannung konnte nicht festgestellt werden. Hingegen zeigte der CO_2-Spannungswert des alten Hundes Nr. 8 am 16. Hungertag auf Zufuhr einer Säuremenge, die nach den Erfahrungen früherer Versuche eben zu einer Glucosurie führt, einen Abfall von mehr als 0,6 %.

Wenn wir damit die durch Hunger allein hervorgerufene Herabsetzung der CO_2-Spannung vergleichen, so finden wir ein ähnliches Absinken der CO_2-Kurve beim alten Versuchstier erst im Durchschnittswert der 2. Hälfte des Hungermonats, während beim jungen Tier schon die 2. Hungerwoche zu einer bedeutend stärkeren CO_2-Spannungsdepression führte (bis 1,53 %). Damit stimmt auch die alte, schon oben angeführte Erfahrung gut überein, daß nur junge Tiere, die, nach dem Allgemeinbefinden zu urteilen, unter dem Hungerzustand schwerer leiden, sich zu Hungerdiabetes-Versuchen gut eignen.

Auch die nach dieser Methode ausgeführten Versuche beweisen also, daß der Hungerzustand stets von einer Abnahme der Alkalinität des Blutes begleitet ist. Die Alkalinität sinkt um so tiefer, je länger der Hungerzustand aufrechterhalten wird.

Wenn auch damit der Beweis der bestehenden Säuerung erbracht ist, über die Natur der Säure, die Art ihrer Ent-

stehung, fehlt uns noch jede Kenntnis. Wenigstens haben wir im Hungerharn unserer Hunde nie mehr als Spuren von Aceton und nie Acetessigsäure nachweisen können. Ob jedoch auch im Hunde durch Hunger Acetonkörper entstehen und diese nur durch die besondere Beschaffenheit der Hundenieren, die ja nicht den Weg in den Harn finden, sondern z. B. als flüchtiges Aceton durch die stark ventilierenden Lungen abgegast werden[1]), oder ob ganz andere Säuren auftreten (Ameisensäure ?[2]), das müssen erst weitere Versuche lehren, die die betreffenden Säuren aus dem Blute darzustellen bezwecken.

Über den Entstehungsmechanismus des Hungerdiabetes.

I. Verhalten des Blutzuckers.

Schon Hofmeister hat gezeigt, daß im Hungerdiabetes keine Resorptionsstörung vorliege; um aber den Angriffspunkt dieses physiologischen Diabetes mit Sicherheit in den intermediären Stoffwechsel verlegen zu dürfen, mußten wir zunächst eine Nierenwirkung ausschließen. Denn auch eine im Hungerzustand mangelhaft ernährte und so undicht gewordene Niere könnte zur Glucosurie führen. Dann mußte sich ceteris paribus das Blutzuckerniveau von Hungertieren normal oder niedriger als normal einstellen. Über den Blutzucker von Tieren, die keine Kohlenhydrate erhalten hatten, liegen genügend Befunde vor. Die Hungerwerte stehen, wenn die Inanition nicht zu lange dauert, den normalen Werten so nahe, daß man wohl mit Recht mit v. Noorden annehmen kann, daß die Unterschiede die Fehlergrenze der Bestimmung kaum überschreiten. Schon dieser Umstand spricht gegen eine Beteiligung der Niere an dem Zustandekommen des Hungerdiabetes.

Von den zur Feststellung dieser Verhältnisse gemachten Blutzuckerbestimmungen seien die schon in den Gesamtversuchen angeführten in Tabelle XI nochmals kurz zusammengestellt.

Es hat sich also in sämtlichen Versuchen während der Hungerperiode trotz gleicher oder gar geringerer Zuckergaben

---

[1]) Bei Hund Nr. 8 wurde am letzten Hungertag die Ausatmungsluft über $^5/_4$ Stunden durch Wasser geleitet. Das Wasser zeigte danach keine Acetonreaktion.

[2]) Vgl. Strisower, Sitzungsber. d. Ges. d. Ärzte in Wien vom 18. April 1913. Wiener klin. Wochenschr. S. 685.

Tabelle XI.

Blutzuckerwerte.

Hund	Nüchtern	Im Hungerdiabetes		
		unbeeinflußt ‰	bei Alkalizulage ‰	ohne Alkali ‰
Hund Nr. 1	1,07	1,41	1,05	1,32
„ Nr. 2	1,95	3,01	3,05	—
„ Nr. 3	1,32	3,03	2,41	—
„ „ Hungerdiab. gering	—	1,94	1,43	—
„ Nr. 4	1,29	2,83	—	—
„ „ splanchnikotomiert	1,84	>3,01	—	—
„ Nr. 5	—	2,60	—	—
„ „ splanchnikotom. .	1,86	5,48	—	—
„ Nr. 6	—	3,06	1,48	3,63

eine bedeutende Hyperglykämie nachweisen lassen. Damit war bewiesen, daß im Hungerdiabetes eine Abnormität des intermediären Stoffwechsels, eine mangelhafte Ausnutzung des resorbierten Zuckers vorliegt, wie es Hofmeister von Anfang an angenommen hatte.

II. Einfluß der Nebennieren.

Mit der Hyperglykämie war aber auch eines der Merkmale des Säurediabetes nachgewiesen, das freilich diese Glucosurie mit vielen anderen gemeinsam hat. Die ganze große Gruppe der Glucosurien, die auf dem Wege des Splanchnicus zustande kommen, toxische wie nervöse, war jedoch ausgeschlossen, und die Wahrscheinlichkeit, daß es sich um eine Säureglucosurie handelt, bedeutend erhöht, wenn der Hungerdiabetes durch doppelseitige Splanchnikotomie und Exstirpation des Ganglion coeliacum sich nicht verhindern ließ.

Die zur Entscheidung dieser Frage angestellten Versuche an Hund Nr. 4 und 5 beweisen einwandfrei, daß auch nach Splanchnikotomie der Hungerdiabetes gelingt, ohne daß sich die durch den Hunger hervorgerufene Toleranzabnahme vor und nach der Splanchnikotomie in auffallender Weise voneinander unterscheidet.

Die Assimilationsgrenze selbst aber ist ganz deutlich nach der Operation gestiegen, gleichgültig, ob man normale oder Hungertiere miteinander vergleicht. Das kann auf den

peritonealen Eingriff als solchen [vgl. Fürth und Schwarz[1])] oder, was wahrscheinlicher ist, auf die geringere Funktionstüchtigkeit der Nebennieren nach Splanchnikotomie zurückgeführt werden. Die Nebenniere empfängt eben keine Reize vom Zentrum und läßt darum in ihrer glykogenmobilisierenden Wirkung nach. Bei einer alimentären Zuckerüberschwemmung des Blutes wird nun zwar die Leber in gewohntem Ausmaß Zucker aus dem Blute als Glykogen aufstapeln, aber aufgestapeltes Glykogen weniger als sonst mobilisieren können, so daß das Blut, dem weniger Zucker als in der Norm aus der Leber zurückströmt, sich rascher als gewöhnlich seines Zuckerüberschusses entledigt resp. diesen gar nicht so weit anwachsen läßt. Es bedarf also eines größeren Zuckerüberschusses, um denselben Blutzuckerwert und denselben Grad von Glucosurie zu erreichen.

Nun kennt man aber nach den einander zwar vielfach widersprechenden Literaturangaben nur wenige experimentelle Hyperglykämien, die noch nach Splanchnikotomie gelingen, und unter die der Hungerdiabetes einzuordnen ist.

Neben den Nierengiften, soweit man von diesen überhaupt mit Sicherheit annehmen darf, daß sie Hyperglykämie erzeugen, kommt nur die Adrenalinhyperglykämie selbst, die in den sympathischen Nervenendigungen ihren Angriffspunkt hat, die Aderlaßhyperglykämie, vielleicht auch beim Hunde die Salzhyperglykämie (Mc Guigan) und sonst noch die Hyperglykämie nach Pankreasexstirpation und die Säurehyperglykämie in Betracht.

Wenn man auch von der gewiß auffallenden Tatsache ganz absieht, daß die beiden letzten Hyperglykämien ja selbstverständlich mit Säuerung einhergehen, und daß auch für die drei anderen gleiche Angaben in der Literatur zu finden sind [zuerst bei Jaksch[2]), neuerdings auf Grund einwandfreier Methoden bei Porges[3]), Straub und Schleyer[4]) für Nephiritis, bei

[1]) Wiener klin. Wochenschr. 24, Nr. 4, S. 115, 1911.

[2]) Zeitschr. f. klin. Med. 13, 350, 1888; ältere Literatur bei v. Noorden, Handb. d. Pathol. d. Stoffwechsels I, S. 1025 und 1065.

[3]) Wiener klin. Wochenschr. 24, 332 u. 1150, 1911; Zeitschr. f. klin. Med. 77, H. 5 u. 6, III. Mitteilung, S. 464.

[4]) Münch. med. Wochenschr. 1912, Nr. 11, S. 569.

Elias[1]) für Adrenalin, bei N. Zuntz[2]) für den Aderlaß], so ist doch jedenfalls nicht der geringste Anhaltspunkt dafür zu finden, den Hungerdiabetes den drei ersten Hyperglykämien zuzurechnen. Eine Adrenalinhyperglykämie in einem Organismus anzunehmen, in dem die die Adrenalinsekretion anregenden Nerven durchschnitten sind, ist ebensowenig begründet, wie eine Aderlaßhyperglykämie ohne Tropfen Blutverlust zu supponieren oder auf eine Salzhyperglykämie ohne Salzzufuhr zu rekurrieren, die durch Zufuhr eines Salzes (Soda) kupiert wird. Und während auch für die Annahme einer Nieren- oder Pankreasschädigung[3]) kein einziger Befund vorliegt, so daß wir schon per exclusionem den Hungerdiabetes unter den Säurediabetes einordnen müssen, wenn wir nicht weiter für ihn eine Eigenstellung reservieren wollen, so fehlt uns von allen Beweisstücken, die für das Bestehen des Säurediabetes erbracht wurden, im Hungerdiabetes nur ein Versuch, der die unmittelbare Abhängigkeit des Hungerdiabetes von der Funktion der Leberzellen im Hungerblut vor Augen führen würde.

Da es nun ja die Leber ist, die bei Zuckerüberschuß die übermäßige Zuckermenge aus der Blutbahn herauszuziehen und als Glykogen aufzustapeln hat, so ist zwar der Schluß sicher naheliegend, bei verzögertem Verschwinden des Zuckers aus dem strömenden Blute eine Schädigung der glykogenaufbauenden Funktion der Leber anzunehmen (etwa in der Art, wie im Säurediabetes auch große Zuckergaben nicht imstande sind, den Glykogengehalt der Leber zu heben)[4]); doch ließe sich diese Annahme erst beweisen, wenn in vergleichenden Durchblutungsversuchen, die durch genügende Arterialisierung eine Anlagerung

[1]) l. c. S. 137.

[2]) Zur Kenntnis des Stoffwechsels im Blute. Centralbl. f. med. Wiss. 1867, 801.

[3]) Im Hungerzustande hypertrophieren sogar die Langerhansschen Zellen und nehmen nach den neuesten Angaben an Zahl zu; vgl. Laguesse, Journ. de Phys. 13, 5.

[4]) Knapp nach Abschluß unserer Versuche sind uns noch rechtzeitig einige von den zahlreichen Experimenten in der jüngst erschienenen Monographie von Bang „Der Blutzucker" aufgefallen, die sich mit der alimentären Hyperglykämie im normalen und im Hungerzustande beschäftigen. Bang findet mit seiner neuen Mikromethode zur Bestimmung des Blutzuckers eine deutliche Erhöhung desselben bei seinen Hungerkaninchen — ein Befund, den wir nach unseren oben angeführten Versuchen für

von Glykogen im durchbluteten Organe gestatten, etwa nach Art eines Parabioseversuches, diese Glykogenstapelung bei Durchleitung von Hungerblut nicht gelingt. Von solchen Versuchen wurde vorderhand abgesehen. Statt dessen wurde im folgenden Abschnitt dieser Mitteilung ein direkterer Beweis für das Bestehen des Säurediabetes im hungernden Organismus durch Alkaliversuche angetreten, der Überlegung folgend, daß der Hungerdiabetes in seiner Intensität sinken müßte, wenn er auf Säuerung beruht und diese Säuerung durch Alkalidarreichung herabgesetzt wird.

Über Alkaliwirkung auf den Hungerdiabetes.

Auch wenn der Hungerdiabetes vollkommen auf Säuerung beruht, so ließe sich zwar eine Hemmung, trotzdem aber nicht eine Aufhebung des Hungerdiabetes durch Alkali erwarten, die sich mit solcher Sicherheit bewerkstelligen ließe wie etwa die Neutralisation des Alkali in vitro. Übrigens geht ja auch bekanntlich in vitro dieser Ausgleich trotz der Geschwindigkeit der Ionenwanderung ohne Schütteln nicht gar zu rasch vor sich. Wie viel komplizierter und unvollkommener wird sich der Ablauf dieser Reaktion gestalten, wenn er sich in dem weitverzweigten

---

den Hund vollkommen bestätigen können — und eine geringere Steigerung bei einer zweiten, gleich großen Zuckerdarreichung 4 bis 5 Stunden später. Diese Erscheinung geht ganz parallel mit einer alten Erfahrung Hofmeisters, der nachweisen konnte, daß nicht bloß Fleisch-, sondern auch Kohlenhydratzufuhr genügt, um die Assimilationsgrenze seiner Hunde wieder zu heben.

Bang findet ferner trotz der zugeführten Zuckermengen 1 bis 2 Stunden später verhältnismäßig minimale Glykogenmengen in der Leber. Dieser Befund deckt sich vollkommen mit den Glykogenwerten, die schon früher in Lebern von säurevergifteten Kaninchen beobachtet wurden. Auch diese sind im Verhältnis zu den großen eingeführten Zuckermengen (3 mal 14 g in 20 Stunden) verschwindend gering geblieben (0,0 bis 1,281 g). Bang folgert daraus (S. 124), „daß die Hungerleber nicht zur Glykogenbildung bereit ist, daß aber, nachdem einmal erst durch den Reiz des resorbierten Zuckers eine solche begonnen hat, die Leber nunmehr auch den Zucker besser in Glykogen umzubilden und zurückzuhalten vermag“. Wir würden eben eher der Meinung sein, daß die Leber zur Glykogenbildung darum nicht bereit ist, weil der Gesamtorganismus an Alkali verloren hat und wieder zum Glykogenansatz geeigneter wird, wenn durch die zugeführten Zuckermengen für kurze Zeit der Hunger unterbrochen und die Säuerung zurückgedrängt wird, wie wir es im Versuch Hund Nr. 5 durch Fleischzufütterung ungefähr gezeigt haben.

System des Saftstromes zwischen den Zellen des tierischen Organismus abspielen muß. Auch wird es wohl viel leichter sein, eine künstliche, experimentelle Säuerung, die von der Blutbahn erst gegen die Zellen vorrückt, durch Alkali zu bekämpfen, als sit venia verbo eine physiologische, bei der die Säure in der Zelle entsteht und gleich dem Betriebe der Zelle entsprechenden Schaden anrichten kann. Auch ein einmal verankertes Toxin läßt sich durch Antitoxin nur mehr schwer unschädlich machen. Für die begrenzte Wirkung der Alkalitherapie im Coma diabeticum hat man schon lange ähnliche Gründe angenommen. Vgl. die zusammenfassende Darstellung über Säuerung im Organismus von Porges[1]).

Wenn wir nach diesen Vorbemerkungen einen Blick auf die oben angeführten Versuche 1—6 oder auf die diese Versuche kurz zusammenfassende Tabelle VII werfen, so ergibt sich, daß in sämtlichen 8 Versuchen, die an 6 Tieren angestellt wurden, jedesmal eine hemmende Einwirkung des zugeführten Alkalis auf die Glucosurie sich nachweisen ließ. Der Beweis ist um so zwingender, als die Alkaliperiode 7 mal zwischen zwei gewöhnlichen Hungerperioden angeordnet war. In der ersten und dritten Versuchsperiode, vor und nach der Alkalidarreichung, ergab sich das bekannte Bild des Hungerdiabetes mit vermehrter Zuckerausscheidung, dazwischen ließ sich in der zweiten Periode durch Alkali die Glucosurie bedeutend herabdrücken.

Viermal (an 3 Tieren) wurde durch Alkali die nicht unbedeutende Glucosurie überhaupt kupiert.

Einmal (Hund Nr. 2, 3. XI.) war die ausgeschiedene, wenn auch bedeutend herabgesetzte Zuckermenge auf die intravenöse Verabreichung der Carbonatlösung zurückzuführen, die zu einer starken Diurese (59,5 ccm Harn in den ersten 3 Stunden gegen 23 ccm im Kontrollversuch) geführt und im ersten Anprall etwas Zucker durch die Nieren durchgetrieben hat, so daß diese geringe Glucosurie gewissermaßen als Salzglucosurie gelten darf. Vergleiche dazu Versuch an Hund Nr. 3 vom 16. I. Zwei Tage später, nach dem sich also der Hungerdiabetes nur hätte steigern können, blieb das Tier bei der gleichen Zuckerzufuhr durch perorale Alkaligaben zuckerfrei.

Zweimal, und zwar bei einem und demselben, anscheinend sehr empfindlichen Hund, gelang es nur, durch

[1]) Wiener klin. Wochenschr. 24, 1148 u. 1149.

Alkali die Glucosurie zu hemmen; das eine Mal wurden auch noch verhältnismäßig große Zuckermengen ausgeschieden; die Bluttitration zeigt aber auch, daß die normale Alkalität des Blutes trotz der reichlichen Alkalidarreichung noch nicht erreicht war. In beiden wie in allen übrigen Fällen zeigt aber das Sinken des Blutzuckers deutlich genug das wirksame Eingreifen des Alkalis.

Im letzten Versuche wurden schließlich in der Kontrollperiode physiologische Kochsalzlösung, im Alkaliversuch isotonische Carbonatlösung intravenös zugeführt, um das schon oben besprochene Moment der Salzwirkung auf beiden Seiten in gleicher Weise in Wirkung treten zu lassen. Genauer einstellende Vorversuche, um die komplette Kupierung der Glucosurie durch Alkalien zeigen zu können, waren um so weniger angezeigt, als sich bei diesen kleinen schwachen Tieren jeden Tag der Hungerdiabetes bedeutend steigerte. Der Versuch hat seinen Zweck erfüllt, indem er gezeigt hat, daß auch durch intravenöse Alkalizufuhr trotz erhöhter Zuckergaben die Glucosurie auf $^1/_7$ herabgedrückt und der Blutzucker auf normale Werte zurückgeführt werden konnte.

Die glucosuriehemmende Wirkung der Alkalien[1]) war damit zur Genüge erhärtet, und nun war noch der Angriffspunkt der Alkaliwirkung festzustellen, der auf dem ganzen Wege, den die Kohlenhydrate im Organismus durchlaufen (Resorption, intermediärer Stoffwechsel, event. Ausscheidung), liegen konnte; die sich daraus ergebenden Möglichkeiten wollen wir Punkt für Punkt diskutieren.

Zunächst war es nicht ausgeschlossen, daß die Alkaliwirkung überhaupt nicht als physiologischer, sondern gewissermaßen als rein chemischer Vorgang aufzufassen sei und daß sich die Wirkung des Alkalis gewissermaßen vor den Toren des Organismus im Magen abspielt. Alkali zerstört ja Dextrose, und ganz besonders rasch bei Körpertemperatur. Wenn durch eine solche Glucosezerstörung im Magen weniger Glucose unverändert zur Resorption gekommen wäre, so hätte eine geringere Zuckerausscheidung nur die notwendige Folge davon sein müssen.

---

[1]) Zur Beantwortung der Frage, wie weit das Na-Ion als solches im Gegensatz zum Ka-Ion wirksam ist, wie es eine vorläufige Mitteilung von O. Löwy (Münch. med. Wochenschr. **1913**, 690) nahe gelegt hat, fehlen uns entsprechende Versuche.

Diese Zuckerzerstörung mußte sich aber mindestens ebensogut in vitro nachahmen und so kontrollieren lassen; da ja im Magen ein großer Teil des Alkalis durch den besonders stark sauren Magensaft des Hundes neutralisiert wird, war ein negatives Resultat des Vitroversuches um so beweisender. Es wurde also Alkali und Traubenzucker in Wasser in den zu den Versuchen verwendeten Mengen gelöst und durch 2 Stunden bei 38° im Wasserthermostaten gehalten. Die Zeit betrug also mehr als die Dauer der ersten Harnpause, nach der wir stets schon Zucker im Harn nachweisen konnten. Der Gehalt der Zuckerlösungen wurde vor und nach dem Aufenthalt im Thermostaten durch Polarisation im Saccharimeter bestimmt. Es folgen die erhaltenen Werte.

Tabelle XII.

Kontrolle zum Versuch	4. XI. Nr. 4	5. XI. Nr. 2	7. I. Nr. 3	14. I. Nr. 1	15. I. Nr. 3
Verwendete Zucker-Soda-Lösung in 125 ccm	41 g Zucker + 3 g Soda	30 g Zucker + 3 g Soda	27 g Zucker + 3 g Soda	17 g Zucker + 3 g Soda	20 g Zucker + 3 g Soda
Durch Polarisation bestimmter Prozentgehalt vor $1^1/_2$ stünd. Aufenth. im Wasserbad bei 40°	30,5%	23,0%	20,0%	12,0%	15,0%
Durch Polarisation bestimmter Prozentgehalt nach $1^1/_2$ stünd. Aufenth. im Wasserbad bei 40°	30,0%	23,0%	20,0%	11,75%	14,5%
Danach berechneter Zuckerverlust absolut	0,62 g	0	0	0,31 g	0,62 g

Aus dieser Tabelle geht deutlich hervor, daß die kaum nennenswerten Zuckerverluste durch Alkalizerstörung in keiner Weise als Erklärung für die diskutierte Frage der Alkaliwirkung in Betracht kommen. Übrigens wird dieser Beweis später noch auf einem anderen Wege geführt.

Eine zweite Erklärungsmöglichkeit wäre die, daß das Alkali die Resorption des Zuckers verzögert, dadurch eine plötzliche Zuckerüberschwemmung des Blutes verhindert, und so niedrigere Blutzucker- und Harnzuckerwerte zustande bringt. Um diese Vorstellungen auf ihre Richtigkeit zu prüfen, wurde in zwei Versuchen das Alkali intravenös eingeführt. Da auch in diesen Versuchen (Hund Nr. 2 und Nr. 6), in denen das Alkali mit Umgehung der Resorptionswege direkt in den intermediären Stoffwechsel eingebracht wurde, die Alkaliwirkung auf Blutzucker und Glucosurie deutlich hervortritt, war jede

Möglichkeit, den Angriffspunkt des Alkalis vor den intermediären Stoffwechsel in den Intestinaltract hinaus zu verlegen, ausgeschlossen und beide bisher genannten Einwände gleichzeitig erledigt.

Immer noch berechtigt schien es aber, den Angriffspunkt des Alkalis in den Ausscheidungswegen des Organismus, in einer Nierenwirkung zu suchen. Daß Alkalien die Nierenfilter in mancher Beziehung dichten, wurde schon im Jahre 1907 von v. Noorden[1]) ausgesprochen, später wieder unter anderem von v. Hößlin[2]) und von Weiland[3]) betont. Eine Zuckerdichtung der Nieren durch Alkali kommt hier aber nicht in Betracht. Diese müßte bei den gleichen eingeführten Zuckermengen und bei geringerer Zuckerausscheidung zur Hyperglykämie führen. Tatsächlich aber sinkt der Blutzucker, wie aus den Tabellen ersichtlich ist, bei jeder Alkalizufuhr um ein Bedeutendes.

Da demnach das Alkali weder in den Resorptionswegen noch in den Ausscheidungswegen seinen Angriffspunkt haben kann, so muß es also seinen hemmenden Einfluß auf die Glucosurie vom intermediären Stoffwechsel aus nehmen.

Da bestünde nun nach unseren heutigen Kenntnissen 1. die Möglichkeit, anzunehmen, daß das Alkali durch Adrenalinzerstörung die Glykogenmobilisierung herabsetzt und dadurch Hyperglykämie und Glucosurie verhindert, oder daß 2. das Alkali direkt durch Neutralisation der Säure den Hungerdiabetes id est Säurediabetes verhindert.

Nun spricht gegen die erste Annahme der Umstand, daß in den Alkaliversuchen nach den angeführten Bluttitrationswerten keine die Norm übersteigende Alkalität besteht; auch scheint der Hungerdiabetes, der noch nach Splanchnikotomie gelingt, gegenüber den Schwankungen in der Adrenalinwirkung nicht gar zu empfindlich zu sein, doch immerhin ist diese Deutung nicht ausgeschlossen, und auch sie erweist die Säure als wirksames Prinzip des Hungerdiabetes. Denn wenn erst durch Alkali die saure Körperflüssigkeit auf den Neutralpunkt gebracht werden

[1]) Handb. d. Pathol. d. Stoffw. von v. Noorden **2**, 567.
[2]) Deutsch. Arch. f. klin. Med. **105**, 147, 1911.
[3]) Med. Klin. **1913**, Nr. 13, S. 495.

muß, um durch Adrenalinzerstörung die Normalverhältnisse im Kohlenhydratstoffwechsel zu erzielen, so war eben früher das Fehlen dieser Neutralität die Ursache der Störung.

Wir hätten also zwei einander entgegengesetzt wirkende Faktoren vor uns, den Hungerdiabetes und die Alkalisierung, von denen der eine mit dem Zeichen der Säurevergiftung einhergeht, der andere eine experimentelle Alkalivergiftung darstellt, die beide vom intermediären Stoffwechsel aus wirken; daß sie an verschiedenen Stellen, einerseits an der Leber, andererseits im Adrenalin ihren Angriffspunkt haben, ist nicht sehr wahrscheinlich. Da scheint dann wohl die zweite Vorstellung, die Annahme eines gemeinsamen Angriffspunktes ineinander, weniger gezwungen: sie neutralisieren einander eben wie Säure und Alkali.

Zusammenfassung.

1. Der Hungerdiabetes des Hundes geht mit einer Säuerung des Blutes einher (Titration des arteriellen Vollblutes nach Spiro und Pemsel; Bestimmung der Kohlensäurespannung im Blut durch Analyse der geschlossenen Alveolarluft nach einer der Wolffbergschen Technik nachgebildeten Methode).

2. Der Hungerdiabetes ist stets mit einer bedeutenden Hyperglykämie verknüpft (niedrigere Blutzuckerwerte im normalen, erhöhte Blutzuckerwerte trotz geringerer Zuckerdarreichung im hungerdiabetischen Tiere). Er beruht, wie schon Hofmeister annahm, auf einer Störung des intermediären Stoffwechsels. Er erfolgt nicht durch Innervation der Nebenniere. (Gelingen des Hungerdiabetes nach Splanchnikotomie.)

3. Durch Alkali läßt sich der Hungerdiabetes stets herabsetzen, meistens kupieren, dabei sinkt das Blutzuckerniveau bis zur Norm. Der Angriffspunkt der Alkaliwirkung liegt ebenfalls im intermediären Stoffwechsel (Wirkung intravenöser Alkaliinfusion).

Wir schließen daraus, daß der Hungerdiabetes mindestens zu einem großen Teil ein Säurediabetes ist.

Über die Verteilung und Ausscheidung des subcutan applizierten Digitoxins bei Bufo vulg.

Von

Camill Lhoták von Lhota.

(Aus dem Pharmakologischen Institut der böhmischen Universität Prag.)

(Eingegangen am 28. Mai 1913.)

Unsere Kenntnis über die Veränderungen und die Ausscheidung der Digitalissubstanzen aus dem Organismus sind jüngeren Datums. Zwar haben sich schon ältere Forscher (Homolle und Quevenne, Brandt, Dragendorff) bemüht, in den Organen und im Harne der mit Digitalin vergifteten Tiere das Digitalin zu finden, aber beachtenswerte Resultate erzielten erst M. Cloetta und H. F. Fischer[1]). Diese Forscher fanden etwa $^1/_7$ des Digitoxins im Herzen der akut vergifteten Ratten und konstatierten bei Kaninchen, daß das Digitoxin allmählich mit dem Harn ausgeschieden wird[2]). Dagegen fand Scofone[3]) weder in den Organen, noch im Harn (noch im Speichel) der akut vergifteten Tiere Digitalin. Auch Jernaux[4]) fand weder in den Organen noch im Blute der mit krystallisiertem Digitalin vergifteten Kaninchen eine Spur des Digitalins.

Bei Kaninchen, und zwar sowohl bei akut vergifteten als auch bei an Digitoxin gewöhnten, nahm ich selbst mehrere Untersuchungen der Organe, der Faeces und des Harns auf Digitoxin vor. Aber selbst in $4^1/_2$ kg trockenen Faeces, die in 189 Tagen von einem Kaninchen gesammelt wurden, das im ganzen 3148,5 g Digitalis (des Giftwertes nach Focke — 4) er-

---

[1]) Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol. **54**, 294.

[2]) Hatcher (Amer. Journ. of Physiol. **38**, 303) bestimmte bei Ratten sehr genau die Ausscheidung von subc. appl. Ouabain.

[3]) Toxicité comparée de la digitaline. Genève 1894.

[4]) Arch. internat. de Pharmacodynamie **18**, 117.

halten hatte, wurde (nach der Methode von Kraft) kein Digitoxin und um so weniger das sich leicht zersetzende Gitalin gefunden. Auch wenn einem Kaninchen von 1805 g Gewicht 12 mg Digitoxin Merck subcutan injiziert wurden, fand sich weder im Harne noch in den Faeces Digitoxin.

Nachdem ich also beim Kaninchen im Harne und in den Faeces vergebens das einverleibte Digitoxin gesucht hatte, versuchte ich bei einem Tiere, dessen erwiesene, große, angeborene Widerstandsfähigkeit gegen die Digitalissubstanzen die Möglichkeit bot, große Mengen von Digitoxin subcutan zu applizieren, die Veränderungen und die Ausscheidung des Digitoxins zu verfolgen.

Aus den Versuchen von Vulpian, Kobert, Honda und Hauser[1]) ist es bekannt, daß die Kröten große Mengen der Digitalissubstanzen ohne Schaden vertragen und die tödliche Dosis bei diesen Tieren ungewöhnlich groß ist.

Ich habe in dieser Richtung ebenfalls eine Reihe von Versuchen angestellt, von denen ich einige beachtenswerte Beobachtungen in einer anderen Arbeit zu publizieren noch Gelegenheit haben werde.

Für die Frage nach der Ausscheidung des Digitoxins genügt die Anführung der entsprechenden Daten aus den Digitoxinversuchen.

Für Kröten (von einem Gewicht von 40 bis 60 g) ist die tödliche Digitoxindosis sehr verschieden — nämlich 5 bis 25 mg —, und zwar je nach der Form, in der das Gift in die dorsalen Lymphsäcke injiziert wird. Während nämlich die tödliche Dosis des in 45 bis 50%igem Alkohol gelösten Digitoxins 4 bis 5 mg beträgt, beträgt die letale Dosis des in einer wässerigen Suspension applizierten Digitoxins 20 bis 25 mg. Auch der Verlauf der Vergiftung ist verschieden je nach der Form, in der das Digitoxin appliziert wird. Nach der Injektion einer alkoholischen Lösung (5 mg in 1 ccm) stellen sich bald tonische Bewegungen und infolge Resorption des Alkohols eine mäßige Narkose von etwa einstündiger Dauer ein. Schon etwa 20 Minuten nach der Injektion und namentlich nach der Erholung von der Alkoholnarkose stellen sich Krämpfe ein, die den Pikrotoxinkrämpfen ähnlich sind. Diese Krämpfe dauern mehrere

[1]) Arch. internat. de Pharmacodynamie 10, 483.

Tage. Hierauf tritt Erschöpfung und Tod ein. In der terminalen Paralyse pulsiert das Herz noch (gewöhnlich sehr langsam, z. B. 5 mal in der Minute); schließlich bleibt es in Diastole stehen.

Nach der Injektion des Digitoxins in Suspension äußert das Tier 3 bis 10 Tage hindurch keine Veränderungen (nur sehr selten verläuft die Vergiftung in einigen Tagen tödlich). Allmählich erscheint ein Transsudat unter der Rückenhaut und auch die Rückenmuskeln sind von dem Transsudat durchtränkt; die Bewegungen sind paretisch und das Tier kann sich nur mit Mühe aus der Rückenlage umwenden. Dabei kann man zeitweilig tonische Kontraktionen einzelner Muskelgruppen, besonders in den hinteren Extremitäten, beobachten. Schließlich traten, und zwar teils spontan, am häufigsten aber nach Reizungen, z. B. beim Ergreifen, Krämpfe auf. Diese sind den Pikrotoxinkrämpfen durchaus ähnlich. Das Resultat dieses Zustandes ist am häufigsten der Tod. Seltener erholt sich das Tier, und zwar in der Weise, daß die Krämpfe schwächer und seltener werden, bis sie schließlich nur durch einen intensiven Reiz auslösbar sind. Wenn sich das Tier nach der fast tödlichen Dosis von 20 mg Digitoxin wieder erholt, dann hören die Krämpfe erst nach einer sehr langen Zeit, nach 1 bis 2 Monaten, auf[1]).

Im allgemeinen ist es klar, daß in der Digitoxinwirkung bei Kröten der Einfluß auf das Zentralnervensystem die Herzwirkung so sehr überragt, daß wir das Digitoxin für die Kröte vorwiegend für ein Nervengift und erst in zweiter Reihe für ein Herzgift erklären können. (Zu demselben Ergebnis gelangte ich bezüglich der Reaktion auf Strophantin g, so daß das Angeführte für die ganze Gruppe der Digitalissubstanzen gelten dürfte.)

Ich wandte nun meine Aufmerksamkeit der Ausscheidung des subcutan applizierten Digitoxins durch den Harn und der Erforschung der Verteilung des Giftes im Organismus zu.

Der Inhalt der Kloake und der Harnblase der Kröte kann durch einen geringen Druck auf die Bauchwand ohne Bei-

[1]) Diese vollständige Erholung auch nach so großen Digitoxindosen spricht schon dafür, daß das Gift entweder nach und nach ausgeschieden oder durch Zersetzung unschädlich gemacht wird.

mengung von Fäkalien gewonnen werden. (Die Versuche wurden im Frühjahr ausgeführt, zu welcher Zeit der Verdauungstrakt der Kröte fast ganz leer ist.) Übrigens entleert die Kröte oft beim bloßen Ergreifen die Kloake und die Harnblase spontan, und zwar in einem ziemlich starken Strahl. Es ist dies eine Art von Schreckreflex. Diese Flüssigkeit der Kloake und der Harnblase wird im folgenden kurz als Harn bezeichnet.

Nach einigen Orientierungsversuchen injizierte ich 20 Kröten, die ein Gesamtgewicht von 887 g hatten, in die dorsalen Lymphsäcke je 5 mg Digitoxin (stets in 1 ccm $50\,^0/_0$igen Alkohols), d. i. zusammen 20 Kröten 0,1 g Digitoxin Merck.

17 Versuchskröten gingen binnen 2 bis 6 Tagen an Vergiftung zugrunde; die übriggebliebenen 3 wurden getötet. Während der ganzen 7 Tage wurde der Harn gesammelt, und zwar in der Weise, daß den isoliert unter einer Glasglocke in feuchter Luft gehaltenen Kröten die Kloake täglich entleert wurde. Der Harn wurde mittels Chloroform mehrmals ausgeschüttelt. Nach dem Abdestillieren des Chloroforms wurde mit Hilfe der Kellerschen Reaktion die Digitoxinmenge nach ad hoc bereiteten Lösungen des Digitoxins Merck annähernd bestimmt. (Die weitere Beweisführung mit Hilfe der physiologischen Reaktion, die ich in früheren Versuchen nie versäumt habe, konnte hier nicht durchgeführt werden, weil die Kröte im Harn fortwährend Bufotalin ausscheidet, dem eine mit dem Digitoxin identische Herzwirkung zukommt.)

Schon an dem der Injektion folgenden Tage gelingt der Nachweis des Digitoxins im Harne. In der Gesamtharnmenge aller 20 Kröten (etwa 40 ccm Flüssigkeit) fand man etwa 10 mg Digitoxin, i. e. etwa $10\,^0/_0$ der injizierten Menge.

Behufs Entscheidung der Frage der Verteilung des Digitoxins im Organismus wurden die Rückenmuskeln samt der Wirbelsäule, die Muskeln der hinteren Extremitäten, das Herz, die Leber, der Darm mit dem Magen und die Nieren der Untersuchung unterworfen. Etwa 5 bis 7 mg des Digitoxins wurden in der Rückenmuskulatur gefunden (die samt der Wirbelsäule 42,4 g wog). Allerdings darf nicht vergessen werden, daß das Digitoxin in die dorsalen Lymphsäcke injiziert wurde. In den Extremitätenmuskeln (im ganzen 67,8 g) wurde nur eine geringe Menge des Digitoxins gefunden; auch in den Nieren

fanden sich nur Spuren. Dagegen haben der Darm, die Leber und selbst das Herz nicht einmal eine Spur einer Digitoxinreaktion aufgewiesen.

Im großen und ganzen steht es also fest, daß ein Teil der den Kröten in die dorsalen Lymphsäcke injizierten alkoholischen Digitoxinlösung nicht resorbiert wird (es findet sich zum Teil an der Oberfläche der Rückenmuskulatur) und ein anderer Teil (etwa 10%) mit dem Harne ausgeschieden wird. Im Darme findet sich das Digitoxin nicht, ebensowenig im Herzen.

In einer zweiten Reihe der Untersuchungen versuchte ich den Kröten möglichst große Mengen von Digitoxin in Suspension zu injizieren. Im ganzen wurden 7 Kröten diesen Versuchen unterworfen.

Zwei Kröten wurden je 10 mg Digitoxin in gleichmäßiger Suspension in 1 ccm physiologischer Lösung injiziert. Die eine ging nach 10 Tagen, die andere am 13. Tage nach der Injektion zugrunde.

Fünf Kröten wurden je 20 mg Digitoxin stets in 2 ccm physiologischer Lösung injiziert. Zwei starben schon am 5. resp. 7. Tage nach der Injektion, 3 blieben am Leben.

Von allen Kröten wurde während der ganzen Dauer der Vergiftung der Harn behufs Untersuchung auf Digitoxin gesammelt. Bei der Sektion der an der Vergiftung eingegangenen Kröten fand sich in dem gallertartigen Transsudat, das sich in den Lymphsäcken gebildet hatte, gelöstes Digitoxin, denn das Transsudat gab eine starke Kellersche Reaktion.

Außerdem bildete sich ein dickes salziges Transsudat um zusammengeballte Digitoxinpartikelchen und verhinderte deren Lösung so sehr, daß selbst Essigsäure längere Zeit brauchte, bevor sie das von dem Transsudat eingehüllte Digitoxinkörnchen auflöste. Der Dünndarm und die Nieren waren hyperämisch. Die Rückenmuskeln waren hyperämisch und von Transsudat durchtränkt. Der Inhalt der Harnblase (nur in einem der angeführten 4 Fälle war die Harnblase leer) gab nach der Methode von Keller-Kiliani immer deutliche Digitoxinreaktion.

Von dem injizierten Digitoxin fand man in der Gesamtmenge des während der ganzen Dauer der Vergiftung gesammelten Harns etwa 12 mg. Da aber der Harn auch von den am Leben gebliebenen Kröten stammte, stellen die gefundenen 12 mg einen Teil der gesamten 120 mg Digitoxin dar. Wir fanden also im Harne wiederum wie bei der Injektion der alkoholischen Digitoxinlösung etwa 10%[1]).

In den untersuchten Organen fand man etwa 7 mg des Digitoxins (d. i. von 60 mg über 11%) in der Rückenmuskulatur und eine deutliche Menge auch in den Muskeln der hinteren Extremitäten. Herz, Leber, Darm und Nieren enthielten kein Digitoxin. (Nur einmal, bei einer Kröte, bei der die Vergiftung nach der Injektion von 20 mg Digitoxin in 30 Stunden tödlich verlief, wurde Digitoxin auch in der Leber gefunden.) Dafür fand sich reichlich Digitoxin — etwa 15 mg (d. i. 25%) — in dem gallertartigen Transsudat der dorsalen Lymphsäcke. In dem Transsudate, das sich post mortem in der Bauchhöhle bildet, war kein Digitoxin vorhanden.

Die Versuche an den drei am Leben gebliebenen Kröten haben speziell für die Frage des Schicksals des Digitoxins im Organismus der Kröte Bedeutung. Wie bereits erwähnt, blieb ein Teil des Giftes in den dorsalen Lymphsäcken unresorbiert, ein kleiner Teil findet sich in der Muskulatur und ein Teil wird durch die Nieren ausgeschieden. Aber selbst wenn wir das gesamte auf diese Weise gefundene Digitoxin (annähernd) auf die Hälfte der injizierten Dosis schätzen, bleibt uns noch die ganze übrige Hälfte, von der wir mit der größten Wahrscheinlichkeit behaupten können, daß sie durch Zersetzung unwirksam und zurzeit auch nicht nachweisbar geworden ist.

Vielleicht kann man auch die im Verlaufe der Vergiftung auftretenden Krämpfe teilweise der Wirkung der Zersetzungsprodukte des Digitoxins zuschreiben (eigentlich der pikrotoxinartigen Wirkung des Toxiresins).

---

[1]) Die Ausscheidung des Digitoxins beginnt sehr verschieden lang nach der Injektion der Suspension, z. B. auch erst am 10. Tage. Jedenfalls aber beginnt die Ausscheidung des Digitoxins schon vor dem Ausbruch der Krämpfe.

Der wichtigste Beweis für die Zersetzung des Digitoxins ist aber die Untersuchuug der von der Digitoxinwirkung vollständig erholten Kröten.

Als bei den 3 Kröten (mit einem Gesamtgewicht von 135 g), denen im ganzen 0,06 g Digitoxin subcutan injiziert worden war, die Krampfanfälle vollständig aufhörten und die Kröten keine Vergiftungserscheinungen mehr darboten, wurde der Harn weitere 20 Tage gesammelt. Hierauf wurden sie getötet und ihr Harn und ihre Organe wurden auf Digitoxin untersucht. In dem während dieser 20 Tage gesammelten Harne fanden sich nur etwa 2 mg Digitoxin. Die Rückenmuskulatur enthielt ungefähr 1 mg, die Extremitätenmuskulatur $^1/_2$ mg Digitoxin, In der Leber, im Magen und Darm, in den Nieren und im Herzen wurde kein Digitoxin nachgewiesen.

Nach dem Ergebnis dieser Untersuchung müssen wir annehmen, daß von dem der Kröte in fast letaler Dosis parenteral applizierten Digitoxin etwa $10^0/_0$ durch den Harn ausgeschieden werden. Ein Teil bleibt unresorbiert, ein Teil findet sich in der Skelettmuskulatur. Mehr als die Hälfte des applizierten Digitoxins wird zwar resorbiert, wird aber durch Zersetzung unwirksam und ist vorderhand auch nicht nachweisbar.

Bemerkenswert ist der Umstand, daß das Digitoxin durch den Harn noch ausgeschieden wird und sich in der Muskulatur der Kröten findet, wenn sich diese von der Vergiftung bereits vollständig erholt haben (2 Monate nach der Injektion).

Zusammenfassung.

Das Digitoxin wirkt bei der Kröte vor allem als Nervengift und erst in sehr großen Gaben auch als Herzgift.

Das der Kröte subcutan applizierte Digitoxin wird zum Teil resorbiert, zum Teil aber bleibt es lange Zeit hindurch an der Applikationsstelle unresorbiert.

Das resorbierte Digitoxin ist zum Teil in der Skelettmuskulatur, vorwiegend aber in der Kloakenflüssigkeit resp. im Harn nachweisbar, durch den etwa $10^0/_0$ der injizierten Digitoxinmenge sehr langsam ausgeschieden werden.

Der größere Teil des resorbierten Digitoxins entzieht sich dem Nachweis. Offenbar wird es im Organismus zerlegt.

Untersuchungen über physikalische Zustandsänderungen der Kolloide. XV.

Elektrochemische Untersuchungen am Säureeiweiß.

Von

Kaichiro Manabe (Tokio) und Joh. Matula.

(Aus der physikalisch-chemischen Abteilung der Biologischen Versuchsanstalt in Wien.)

(Eingegangen am 30. Mai 1913.)

Mit 8 Figuren im Text.

Einleitung.

Die Eigenschaften der Gemische von Eiweiß mit verdünnten Säuren und Laugen führten bekanntlich zu der namentlich von Bugarszky und Liebermann, W. B. Hardy, Wo. Pauli und seinen Schülern, T. Br. Robertson u. a. vertretenen und ausgearbeiteten Theorie der ionisierenden Eiweißsalze. Eiweiß vermag zufolge seiner amphoteren Natur sowohl mit Säuren als Basen Salze zu bilden, die elektrolytisch dissoziieren, und zwar kommt es im ersten Falle zur Abspaltung positiver Eiweißionen, während das negative Ion durch das Anion der betreffenden Säure dargestellt wird; im zweiten Falle dissoziiert das Salz in ein negatives Eiweißion, während sein Kation durch das Metallion der betreffenden Base repräsentiert wird. Diese Schlußfolgerungen wurden zum größten Teil auf indirektem Wege, aus Veränderungen der Viscosität, der Koagulation durch Säure und Alkohol usw. gewonnen. Die einzigen direkten Beweise für diese Annahme bilden die Versuche Bugarszkys und Liebermanns[1]), die zeigten, daß bei

[1]) Ein anderer direkter Weg wurde in noch unveröffentlichten Versuchen von Pauli und Sameo mit Hilfe quantitativer Überführungsversuche eingeschlagen.

Salzsäurezusatz die Bindung der Wasserstoffionen größer als jene der Chlorionen sein kann. Die damalige Umständlichkeit und Unvollkommenheit der von diesen Forschern verwendeten Methode brachte es mit sich, daß ihre Untersuchungen sich nur über eine kleine Reihe von Beobachtungen erstreckten. Es war daher wünschenswert, die Ionisationsverhältnisse der Eiweißsalze direkt festzustellen.

Wir unternahmen es deshalb, analog den letzten Jahren am Institute ausgeführten systematischen Untersuchungen am Eiweiß mit Hilfe der elektrometrischen Bestimmung von Wasserstoff- und Chlorionen die Ionisationsverhältnisse des salzsauren Eiweißes einer eingehenden Prüfung zu unterziehen. Da eine bequeme, für die Anwendung in größerem Maßstabe eingerichtete Methode zur elektrometrischen Chlorionenbestimmung (die Methode von Bugarszky und Liebermann ist sowohl, was ihre praktische Ausführung anlangt als noch mehr was die rechnerische Verarbeitung der gewonnenen Resultate anlangt, sehr umständlich) eigentlich bisher fehlte, so war es unsere nächste Aufgabe, ein geeignetes Verfahren dafür ausfindig zu machen. Mit Hilfe dieser Methode und der von Sörensen und Hasselbalch in ausgezeichneter Weise ausgearbeiteten Wasserstoffionenbestimmung unternahmen wir dann systematische Paralleluntersuchungen der Chlor- und Wasserstoffionenbindung durch Eiweißkörper.

Versuchsmethodik.

Die elektrometrische Bestimmung der Wasserstoffionenkonzentration.

Die elektrometrische Bestimmung der Wasserstoffionenkonzentration ist von S. P. L. Sörensen bis ins Einzelne ausgearbeitet worden[1], und es findet sich alles Bemerkenswerte darüber in seinem jüngst erschienenen Sammelreferat ausführlich dargelegt[2]. Immerhin haben wir bei unseren Untersuchungen einige Erfahrungen gemacht, deren Mitteilung uns nicht überflüssig erscheint. Die Bestimmung der Wasserstoffionenkonzentration geschah fast ausschließlich auf dem Wege der Hasselbalchschen Schaukelmethode[3], die es ermöglicht, innerhalb

[1]) S. P. L. Sörensen, Enzymstudien 2, 153; diese Zeitschr. 21, 1909.

[2]) S. P. L. Sörensen, Messung und Bedeutung der Wasserstoffionenkonzentration usw. Ergebn. d. Physiol., 12. Jg., 1912.

[3]) K. A. Hasselbalch, Elektrometrische Reaktionsbestimmung usw. Diese Zeitschr. 30, 1910.

einer kurzen Zeit bei ruhender Wasserstoffatmosphäre Konstanz der Messung zu erhalten. Die von Hasselbalch angegebene Form der Elektrode besitzt aber einige Nachteile (vgl. die Abbildung in dem Sörensenschen Referate S. 412 bzw. der zitierten Abhandlung von Hasselbalch, S. 326). Der Verschluß der Elektrode wird durch einen kuppelförmigen Glasteil gebildet, der mittels eines ebenen Schliffes dem unteren Teil der Elektrode luftdicht aufsitzt. Diese Art des Verschlusses hat sich aber als nicht zuverlässig dicht erwiesen, denn es erfolgte trotz guten Einfettens gelegentlich Austritt von Flüssigkeit und Gas; wir waren daher anfangs gezwungen, die Verschlußstelle noch mit Paraffin zu überziehen. Außerdem bildet die Kuppel eine Art „schädlichen" Raum, in dem das Gas stagniert, so daß die daselbst etwa vorhandene Beimischung von atmosphärischer Luft erst nach längerem Durchleiten verdrängt werden kann. Ferner ist die Art der elektrischen Ableitung unbequem und für das Schütteln ungünstig.

Wo. Pauli hat daher an diesem Apparate einige Modifikationen angebracht, die einerseits die erwähnten Übelstände beseitigen, andererseits die Handhabung des Apparates wesentlich erleichterten (Fig. 1). Der kuppelförmige Aufsatz wurde durch einen gut eingeschliffenen Glasstöpsel ersetzt, in den auch der das mit Platinmoor überzogene Platinblech tragende Platindraht eingeschmolzen ist. Am Glasstöpsel befindet sich ein weit offenes Glasrohr, in das das freie Ende des eingeschmolzenen Platindrahtes hineinragt. In dieses Rohr wird Quecksilber gefüllt, wodurch der Kontakt mit der Klemmenableitung hergestellt wird, welch letztere vermittels eines kurzen Gummischlauches so dicht angeschlossen ist, daß damit zugleich ein Verschluß des Glasrohres bewirkt und hiermit ein Ausgießen des Quecksilbers während des Schüttels vermieden wird. Es ist ferner zweckmäßig, die Lötstellen an den Klammern zum Schutze vor dem Quecksilber mit Asphaltlack zu überziehen. Die Elektrode befindet sich dauernd auf einem speziellen Stativ[1]). Um nun das unbequeme Schaukeln mit der Hand und die damit verbundene Gefahr des Zerbrechens der Elektrode zu vermeiden, wird die Elektrode samt dem Stativ auf eine ganz einfache Drehvorrichtung geschraubt und diese nun mit der

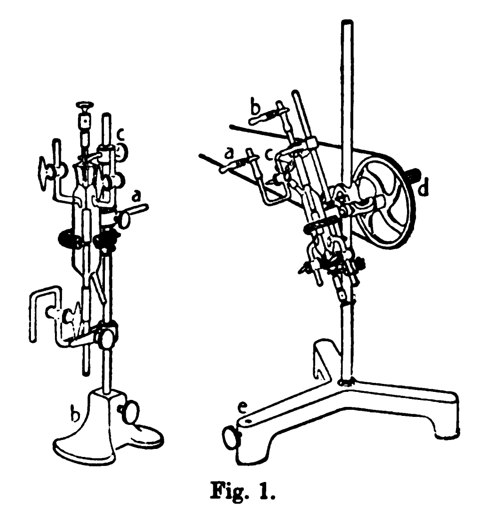


Fig. 1.

[1]) Dieses wurde von F. Köhler in Leipzig passend konstruiert.

Hand oder mittels Motor in Bewegung gesetzt. Die Kapazität dieses Apparates beträgt ca. 11 ccm[1]).

Die Messung der elektromotorischen Kraft geschah nach der Poggendorfschen Kompensationsmethode. Wir benutzten dabei niemals eine einfache, sondern stets eine verlängerte Meßbrücke von einem Gesamtwiderstand von 100 Ohm, die eine 10 mal so große Genauigkeit als die gewöhnlichen 1 m langen Meßbrücken gestattet. Als Nullinstrument wurde ein Lippmannsches Capillarelektrometer mit geschlossener Capillare nach Ostwald-Luther verwendet. Als konstante Bezugselektrode diente ausschließlich eine mit 1 n-KCl gefüllte Quecksilber-Kalomelelektrode. Bei Flüssigkeiten von geringer Leitfähigkeit sind die Ausschläge im Capillarelektrometer sehr gering. Die Region, innerhalb der das Capillarelektrometer bei der Kompensation keinen sichtbaren Ausschlag zeigt, ist daher ziemlich breit und die Messung wird daher ungenauer. Man muß deshalb sein Augenmerk namentlich darauf richten, den absoluten Widerstand möglichst klein zu gestalten. Dies ist der Hauptgrund dafür gewesen, warum wir an Stelle der von Sörensen verwendeten 0,1 n-KCl-Elektrode eine 1 n-KCl-Elektrode benutzten, denn ihr Widerstand ist ja ungefähr neunmal kleiner als jener der 0,1 n-KCl-Elektrode.

Etwa vorhandene Diffusionspotentiale wurden nach der Methode von N. Bjerrum[2]) eliminiert, indem die Messungen doppelt, und zwar einmal mit einer 3,5 n-KCl-Lösung, das zweite Mal mit einer 1,75 n-KCl-Lösung als Zwischenflüssigkeit ausgeführt wurden[3]). Durch Extrapolation der beiden erhaltenen Werte erhielt man dann das gesuchte Potential. Der zur Verwendung kommende Wasserstoff wurde in einem Kippschen Apparate durch Übergießen von Zink mit Schwefelsäure erzeugt. Die verwendeten Materialien waren chemisch reine Schwefelsäure und reinstes Zink (Kahlbaum), wie es zu forensischen Zwecken verwendet wird. Wir haben mit selbst guten Marken von käuflichem Zink die schlechtesten Erfahrungen gemacht, denn es kommt immer namentlich bei längerer Verwendung zur Bildung von nicht geringen Mengen Schwefelwasserstoff, der die Elektrode für den weiteren Gebrauch vollständig unbrauchbar macht. Auch ist es ratsam, die Schwefelsäure in nicht allzu starken Konzentrationen anzuwenden, da auch diese nach unseren Erfahrungen durch begleitende Reduktionsvorgänge zur Entwicklung von H_2S Anlaß geben. Konzentrationen von 5 bis 7% H_2SO_4 leisten dabei die besten Dienste; man ist freilich dann öfters genötigt, den Apparat mit frischer H_2SO_4 zu füllen, jedoch steht diese kleine Mühe in keinem Verhältnis zu dem Verlust an Zeit und Arbeit, den

---

[1]) Die hier angegebene Elektrode, das Stativ und die Drehvorrichtung wird von der Firma F. Köhler in Leipzig in tadelloser Ausführung geliefert.

[2]) Zeitschr. f. phys. Chem. 53, 1905.

[3]) Sehr handlich ist eine für diesen Zweck von Pauli angegebene Drehscheibenvorrichtung (zu beziehen durch F. Köhler, Leipzig).

eine Vergiftung der Elektrode mit Schwefelwasserstoff bewirkt. Außerdem wurde der Wasserstoff, ehe er in die Elektrode gelangte, zweimal mit konzentrierter Sublimatlösung, einmal mit Kaliumpermanganat und schließlich mit destilliertem Wasser gewaschen.

Wie schon Sörensen bemerkt, kommt es mitunter vor, daß eine bisher tadellos funktionierende Elektrode plötzlich falsche Resultate liefert. Dies beruht unserer Erfahrung nach ausschließlich auf einer „Vergiftung" der Elektrode. Die Platinelektroden sind nämlich gegen viele Stoffe sehr empfindlich und können daher bei Gegenwart derselben nicht verwendet werden. Wie schon erwähnt, bewirkt Anwesenheit von geringen Mengen Schwefelwasserstoff und ebenso Arsenwasserstoff eine dauernde Schädigung der Elektrode. Diese Art der Vergiftung gibt sich darin kund, daß die gemessenen Potentiale erstens sehr inkonstant und zweitens um ein ganz Bedeutendes zu hoch sind. Auch Gegenwart von Bromiden in etwas stärkeren Konzentrationen (schon bei 0,02 n) kann auf die Elektrode schädigend einwirken. In diesem Falle ist das gemessene Potential außer dem Umstande, daß die Werte sehr inkonstant sind, viel zu klein. Mitunter genügt die Entfernung des störenden Agens durch Auswaschen, um die Elektrode wieder gebrauchsfertig zu machen; häufig ist aber die Schädigung eine dauernde. In einem solchen Falle gibt es kein anderes Mittel, als die Elektrode zu glühen und von neuem zu platinieren.

Großen Nachdruck legt Sörensen auf eine gute und sorgfältige Isolation der gesamten Meßanordnung. Wir halten diese Vorsichtsmaßregel, deren Bedeutung bei den minimalen vorliegenden Spannungen nicht recht verständlich ist, für überflüssig und glauben, daß alle Störungen, die Sörensen darauf zurückführen will, durch andere Ursachen bedingt sind. Eine mangelnde Isolation soll sich nach diesem Forscher gewöhnlich dadurch zu erkennen geben, daß das Capillarelektrometer, selbst wenn es nicht in den Stromkreis eingeschaltet ist, größere oder kleinere Ausschläge gibt, wenn der Kurzschluß unterbrochen und wieder hergestellt wird. Dies ist aber durchaus nicht auf eine mangelnde Isolation zurückzuführen, sondern ist eine typische Folge der Polarisation des Elektrometers, die sehr leicht eintritt, wenn ein kurzer, stärkerer Strom oder ein schwächerer Strom während längerer Zeit durch das Instrument gesendet wird. Sie verschwindet sofort bei Austausch der Capillare, weshalb es sich empfiehlt, stets mehrere Capillare in Vorrat zu haben. Diese Polarisation, die bei ihrer Nichtbeachtung selbstverständlich zu fehlerhaften Messungen führen würde, wird überdies meist leicht beseitigt, indem man das Instrument auf längere Zeit in sich kurzschließt. Sie läßt sich aber auch sofort aufheben, wenn man Stromstöße von einer dem polarisierenden Strom entgegengesetzten Richtung vorsichtig abgestuft durch das Instrument schickt.

Bei allen diesen Messungen ist es auch von Wichtigkeit, auf Konstanz der Temperatur zu achten, welche Bedingung sich ohne Thermostaten nicht immer erfüllen läßt. Wir haben daher bei Temperaturen über 18° (bei niedrigeren Temperaturen haben wir niemals gemessen) in unseren

Berechnungen darauf Rücksicht genommen und an den Werten für die elektromotorische Kraft des Normalelementes und der Konstanten K entsprechende Korrektionen ausgeführt. Eine Korrektion des π_0-Wertes hatten wir nicht vorgenommen, da sich dieser innerhalb der hier in Betracht kommenden Schwankungen von im Maximum 5° nur in der vierten Dezimalstelle, also nur um Zehntel-Millivolts ändert. (Vgl. die Tabelle von Koefoed in dem Sörensenschen Referate.) Die Korrektion der elektromotorischen Kraft des Normalelementes und der Konstante K geschah nach den folgenden Formeln:

$$N = 1{,}0186 + 0{,}00004\,(20 - t^0)\ \text{Volt}$$

und

$$K = 0{,}0577 + 0{,}0002\,(t^0 - 18).$$

In gleicher Weise wurden die Korrektionen bei der weiter unten zu besprechenden elektromotorischen Bestimmung der Chlorionenkonzentration durchgeführt. Da wir aus dem obenerwähnten Grund eine mit $^n/_1$-KCl gefüllte Quecksilber-Kalomelelektrode als konstante Bezugselektrode verwendeten, so ist es selbstverständlich, daß wir den von Sörensen angegebenen Wert für π_0 (0,3377) nicht so ohne weiteres verwenden konnten, sondern erst die Differenz zwischen den elektromotorischen Kräften einer $^n/_1$-KCl- und einer $^n/_{10}$-KCl-Elektrode von diesem Werte subtrahieren mußten. Bei Gegeneinanderschaltung einer $^n/_1$-KCl- und einer $^n/_{10}$-KCl-Elektrode erhielten wir für die Potentialdifferenz zwischen den beiden den Wert von 0,054 Volt. Daher muß der π_0-Wert bei Verwendung einer $^n/_1$-KCl-Kalomelelektrode 0,2837 Volt betragen, welchen Wert wir auch allen unseren Berechnungen zugrunde gelegt haben. Da wir aber später durch eine noch zu erwähnende theoretische Berechnung imstande waren, diese Potentialdifferenz noch genauer zu bestimmen (und zwar beträgt dieselbe 0,05443 Volt), so ist dieser Wert besser noch auf 0,2833 zu korrigieren.

Die Berechnung der Wasserstoffionenkonzentration aus dem gefundenen Potential erfolgt bekanntlich nach der folgenden Formel:

$$P_{\mathrm{H}} = \frac{\pi_p - \pi_0}{K},$$

in der mit P_{H} der Wasserstoffionenexponent, mit π_p das gefundene Potential der Konzentrationskette, bestehend aus der mit der Untersuchungsflüssigkeit gefüllten Wasserstoffelektrode und einer Normalkalomelelektrode, mit π_0 das Potential einer derartigen Kette bei einer H-Ionenkonzentration der Untersuchungsflüssigkeit von 1 n und mit K schließlich der Wert 0,0577 (bei 18°) bezeichnet ist. Über eine weitere Diskussion dieser von Sörensen formulierten Gleichung sei auf die Besprechung der Messung von Chlorionenkonzentrationen hingewiesen.

Die elektrometrische Bestimmung der Chlorionenkonzentration.

Die elektromotorische Kraft der Kalomelelektrode, d. h. also die Potentialdifferenz, die zwischen dem Quecksilber und einer mit Kalomel gesättigten Kaliumchloridlösung besteht, ist abhängig von der Konzen-

tration des Kaliumchlorids oder präziser ausgedrückt, von der Konzentration der vorhandenen freien Chlorionen. Sie wird um so größer sein, je weniger freie Chlorionen, und selbstverständlich um so kleiner sein, je mehr freie Chlorionen in der Flüssigkeit vorhanden sind. Diese Chlorionen rühren zwar nicht allein vom Kaliumchlorid, sondern auch von der Dissoziation des Kalomels her; da aber das Kalomel in Wasser außerordentlich schwer löslich ist, so spielen die Cl-Ionen des Kalomels praktisch keine Rolle.

Diese Abhängigkeit der elektromotorischen Kraft der Kalomelelektrode von der Cl-Ionenkonzentration gibt uns ein Mittel an die Hand, das Prinzip derselben für eine Methode zur Chlorionenbestimmung auszuwerten. Wir können nämlich anstatt mit einer KCl-Lösung die Elektrode mit einer beliebigen Chlorionen-haltigen Flüssigkeit füllen, die erwähnte Beziehung der Potentialdifferenz zur Cl-Konzentration wird auch dann immer bestehen müssen, sofern die Hg-Ionen nicht in einem anderen kleineren Löslichkeitsprodukt auftreten können.

Um also eine Flüssigkeit auf ihren Cl-Ionengehalt zu untersuchen, wird man sich eine Kalomelelektrode herstellen und diese anstatt mit einer KCl-Lösung mit der Untersuchungsflüssigkeit füllen, diese Elektrode wird man dann durch Vermittlung einer Zwischenflüssigkeit gegen eine gewöhnliche, mit 1 n- bzw. 0,1 n-KCl gefüllte, Quecksilber-Kalomelelektrode schalten und nun mittels einer der üblichen Methoden die elektromotorische Kraft dieser Kette bestimmen.

Die Berechnnng der Chlorionenkonzentration der Untersuchungsflüssigkeit kann nun ganz analog der von S. P. L. Sörensen für die Wasserstoffionenkonzentration angegebenen Weise erfolgen.

Um aus der gefundenen elektromotorischen Kraft die Cl-Ionenkonzentration der entsprechenden Untersuchungsflüssigkeit berechnen zu können, ist es vor allem notwendig, zunächst die einer ganz bestimmten und bekannten Cl-Ionenkonzentration entsprechende elektromotorische Kraft zu kennen; denn wenn wir mit π_p die elektromotorische Kraft eines Elementes, bestehend aus der Ableitungselektrode und der mit einer Flüssigkeit von der Cl-Ionenkonzentration C_p gefüllten Kalomelelektrode, und mit π_q und C_q die entsprechenden Werte eines analogen derartigen Elementes bezeichnen, so besteht zwischen diesen beiden elektromotorischen Kräften nach Nernst die folgende Beziehung

$$\pi_p - \pi_q = K \log \frac{C_q}{C_p} \quad \ldots\ldots\ldots\ldots \quad (1)$$

wobei $K = \frac{R\,T}{E_0} \times 2{,}3026 = 0{,}0577 + 0{,}0002\,(t^0 - 18^0)$ ist (R ... allgemeine Gaskonstante, T ... absolute Temperatur und E_0 ... die mit einem Grammäquivalenten eines Elektrolyten wandernde Elektrizitätsmenge $2{,}3026 = \log e^{10}$). Diese Formel ermöglicht uns also, wenn wir die elektromotorischen Kräfte π_p und π_q der beiden Elemente, sowie die genaue Cl-Ionenkonzentration des einen Elementes kennen, die Cl-Ionenkonzentration C_q des anderen auszurechnen. Umgekehrt kann man auch die

einer gegebenen Cl-Ionenkonzentration entsprechende elektromotorische Kraft berechnen.

Der Einfachheit halber nimmt man als Vergleichspotential die elektromotorische Kraft π_0 an, die einer Chlorionenkonzentration von 1 n entspricht. Diesen Wert π_0 bestimmt man dadurch, daß man zunächst die elektromotorische Kraft, die einer in ihrer Cl-Ionenkonzentration genau bekannten Lösung entspricht, bestimmt; dann folgt aus obiger Gleichung, daß

$$\pi_0 = \pi_p - K \log \frac{C_0}{C_p},$$

und da $C_0 = 1$ ist, so ist

$$\pi_0 = \pi_p - K \log \frac{1}{C_p} \quad \dots\dots\dots\dots (2)$$

Mit Hilfe dieses π_0 können wir nun für jeden beliebigen π_p-Wert die dazugehörige Cl-Ionenkonzentration ausrechnen, denn

$$\pi_p = \pi_0 + K \log \frac{1}{C_p},$$

woraus folgt:

$$\log \frac{1}{C_p} = \frac{\pi_p - \pi_0}{K} \quad \dots\dots\dots\dots (3)$$

C_p ist aber der Normalitätsfaktor der Lösung in bezug auf ihre Cl-Ionen, und da dieser für die hier in Betracht kommenden Flüssigkeiten immer kleiner als 1 ist, so kann er gleich als 10^{-p} gesetzt werden; die Zahl p wollen wir in Analogie mit S. P. L. Sörensen's Betrachtungen für die H-Ionenmessung, als Chlorionenexponent bezeichnen und sie als p_{Cl} schreiben. Es ist demnach:

$$p_{\mathrm{Cl}} = \log \frac{1}{C_p} = \frac{\pi_p - \pi_0}{K}.$$

Unsere Aufgabe wird es daher zunächst sein, den Wert für π_0, also die der Chlorionenkonzentration 1 entsprechende elektromotorische Kraft zu finden. Wir werden also gegen eine $^{\mathrm{n}}/_{1}$- oder $^{\mathrm{n}}/_{10}$-Normalkalomelelektrode eine zweite Kalomelelektrode schalten, die eine genau bekannte Cl-Ionenkonzentration besitzt, die elektromotorische Kraft dieser Kette bestimmen und den für dieselbe erhaltenen Wert in Formel (2) substituieren und auf diese Weise π_0 erhalten. Als Untersuchungsflüssigkeit kann man am besten Kaliumchlorid nehmen, und zwar erstens einmal weil die Dissoziationskonstanten desselben durch Kohlrauschs Untersuchungen sehr genau bekannt sind, und zweitens, weil bei ihm das bei anderen Substanzen oft sehr lästige Diffusionspotential zufolge der gleichen Wanderungsgeschwindigkeit des K- und Cl-Ions in Wegfall kommt. Die Voraussetzung der Verwendung von KCl als Untersuchungsflüssigkeit enthebt uns aber weiter jeder Notwendigkeit, den π_0-Wert auf experimentellem Wege zu bestimmen; wir können vielmehr mit Hilfe der folgenden Überlegungen eine rein theoretische Berechnung dieses Wertes durchführen.

Gesetzt den Fall, wir verwenden als konstante Ableitungselektrode eine Quecksilberkalomelelektrode gefüllt mit 1 n-KCl-Lösung und benutzen

als Untersuchungsflüssigkeit gleichfalls eine 1 n-KCL-Lösung, d. h. wir schalten zwei vollständig gleiche Elektroden gegeneinander, so muß die elektromotorische Kraft der sich hieraus ergebenden Kette zufolge der vollständigen Symmetrie beider Pole gleich Null sein; daraus folgt aus Gleichung (2)

$$\pi_0 = 0 - K \log \frac{1}{C_p} = - K \log \frac{1}{C_p}.$$

Für die Temperatur 18° ist K 0,0577; die Chlorionenkonzentration einer 1 n-KCl-Lösung $C_p = 0{,}74848$. Für π_0 findet man daher den Wert 0,00725981 Volt. Bei Annahme der Verwendung einer $^n/_{10}$-KCl-Kalomelelektrode ergibt sich für π_0 der Wert —0,061687 Volt.

Die ausgeführten Kontrollexperimente stellten die Berechtigung dieser Deduktion außer Zweifel und bildeten zugleich die exakte Probe auf die verwendete Methode und deren Empfindlichkeit.

Als Untersuchungsflüssigkeit wurden Kaliumchloridlösungen von wechselnder und genau bekannter Konzentration verwendet; sie wurden nacheinander in die eine Kalomelelektrode eingefüllt und unter Vermittlung einer konzentrierten KCl-Lösung gegen eine mit 0,1 bzw. 1 n-KCl-Lösung gefüllte Kalomelelektrode geschaltet und hierauf das Potential der sich daraus ergebenden Kette bestimmt. Bei den Versuchen, in welchen die KCl-Konzentration der Untersuchungsflüssigkeit unter 0,01 n lag, wurde den Lösungen zum Zwecke der Herabsetzung ihres Widerstandes noch Kaliumnitrat hinzugesetzt, und zwar in solchen Mengen, daß die Gesamtkonzentration des Kaliums immer 0,1 n betrug. Nach Arrhenius bleibt dabei der Dissoziationsgrad des Kaliumchlorids unverändert und entspricht dem Dissoziationsgrade einer 0,1 n-KCl-Lösung. Die zur Ermittlung des π_0-Wertes ausgeführten Versuche sind in den folgenden beiden Tabellen zusammengestellt; die erste Tabelle bezieht sich auf Versuche, die mit einer 1 n-KCl-Elektrode, die zweite auf solche, die mit einer 0,1 n-KCl-Elektrode als konstante Ableitungselektrode ausgeführt wurden.

Tabelle I.

Als konstante Bezugselektrode diente eine mit 1 n-KCl-Lösung gefüllte Kalomelelektrode.

Versuchslösung	T.	C_{Cl}	P_{Cl}	$\log \frac{1}{C_{Cl}} \times K$	π	π_0
0,1 n-KCl	18°	0,08529	1,06909	0,061686	0,053986	—0,00770
0,05 n-KCl	19°	0,04417	1,35486	0,078446	0,070100	—0,00835
0,03 n-KCl	19°	0,02705	1,56782	0,090746	0,083746	—0,00700
0,02 n-KCl	18°	0,01829	1,73778	0,100070	0,091930	—0,00814
0,01 n-KCl	20°	0,009337	2,02978	0,117930	0,11081	—0,00712
0,005 n-KCl + 0,095 n-KNO_3	21°	0,004264	2,37017	0,137809	0,13076	—0,00704
0,003 n-KCl + 0,097 n-KNO_3	23°	0,002558	2,59209	0,152055	0,14495	—0,00710
0,001 n-KCl + 0,099 n-KNO_3	21°	0,000853	3,06904	0,178927	0,17042	—0,00851

Mittel = —0,00762

Berechneter Wert für 18° = —0,00726

Tabelle II.

Als konstante Bezugselektrode diente eine mit 0,1 n-KCl-Lösung gefüllte Kalomelelektrode.

Versuchslösung	T.	C_{Cl}	$\log \frac{1}{C_{Cl}} \times K$	π	π_0
0,05 n-KCl	19°	0,04417	0,078446	0,01571	−0,06274
0,03 n-KCl	19°	0,02705	0,090746	0,02990	−0,06084
0,02 n-KCl	19°	0,01929	0,100417	0,03787	−0,06355
0,02 n-KCl	19°	0,01929	0,100417	0,03846	−0,06196
0,01 n-KCl	21°	0,009337	0,117930	0,05667	−0,06126
0,01 n-KCl	21°	0,009337	0,117930	0,05505	−0,06288
0,005 n-KCl + 0,095 n-KNO_3	21°	0,004264	0,137809	0,07548	−0,06232
0,003 n-KCl + 0,097 n-KNO_3	23°	0,002558	0,152055	0,09359	−0,05846
0,001 n-KCl + 0,099 n-KNO_3	21°	0,000853	0,179541	0,11827	−0,06127
				Mittel =	−0,06170

Berechneter Wert für 18° = −0,061687

Mit Hilfe dieses π_0-Wertes läßt sich also für jede gefundene elektromotorische Kraft π die ihr entsprechende Chlorionenkonzentration berechnen. Bei Substitution der entsprechenden Werte in Formel 3 erhält man für eine mit KCl gefüllte Normal-Kalomelelektrode als Ableitungselektrode die Formel:

$$P_{Cl} = \frac{\pi + 0,00726}{0,0577}$$

und für eine ebensolche mit $^n/_{10}$-KCl gefüllte Ableitungselektrode:

$$P_{Cl} = \frac{\pi + 0,06169}{0,0577}.$$

Diese Formeln gelten für 18° C. Bei einer anderen Temperatur ist die Konstante 0,0577 in entsprechender Weise zu korrigieren: $0,0577 + 0,002\,(t - 18)$. Den π_0-Wert selbst zu korrigieren ist innerhalb der gewöhnlichen Schwankungen der Zimmertemperatur (18° bis 24°) wohl unnötig, da selbst bei sehr exakter Messung die Werte meist nur auf zwei Millivolt reproduzierbar sind und die etwaigen Temperaturkorrekturen aber erst die vierte bzw. die fünfte Dezimalstelle betreffen. Mit Hilfe der berechneten π_0-Werte haben wir, in Analogie mit Sörensen, die in Fig. 2 enthaltenen beiden Kurven konstruiert, die die Abhängigkeit der elektromotorischen Kraft unserer Elektrodenkette von der Chlorionenkonzentration (bei 18° C) wiedergeben. Als Ordinaten sind die elektromotorischen Kräfte, auf der Abszisse die Logarithmen der Konzentrationen als die „Chlorionenexponenten“ aufgetragen. Die erhaltenen Kurven sind natürlich Geraden. Die obere, vollausgezogene Kurve gilt für die Verwendung einer mit $^n/_1$-KCl-Lösung gefüllten Kalomelnormalelektrode als konstante Ableitungselektrode, die untere, gestrichelte für eine solche mit $^n/_{10}$-KCl gefüllte Elektrode. Die eingezeichneten Punkte entsprechen den in obigen Punkten niedergelegten experimentell gefundenen Werten. Es läßt sich aus diesen Kurven ohne jede weitere Rechnung aus der ge-

fundenen elektromotorischen Kraft sofort der Chlorionenexponent der betreffenden Lösung auf zwei Dezimalstellen bestimmen.

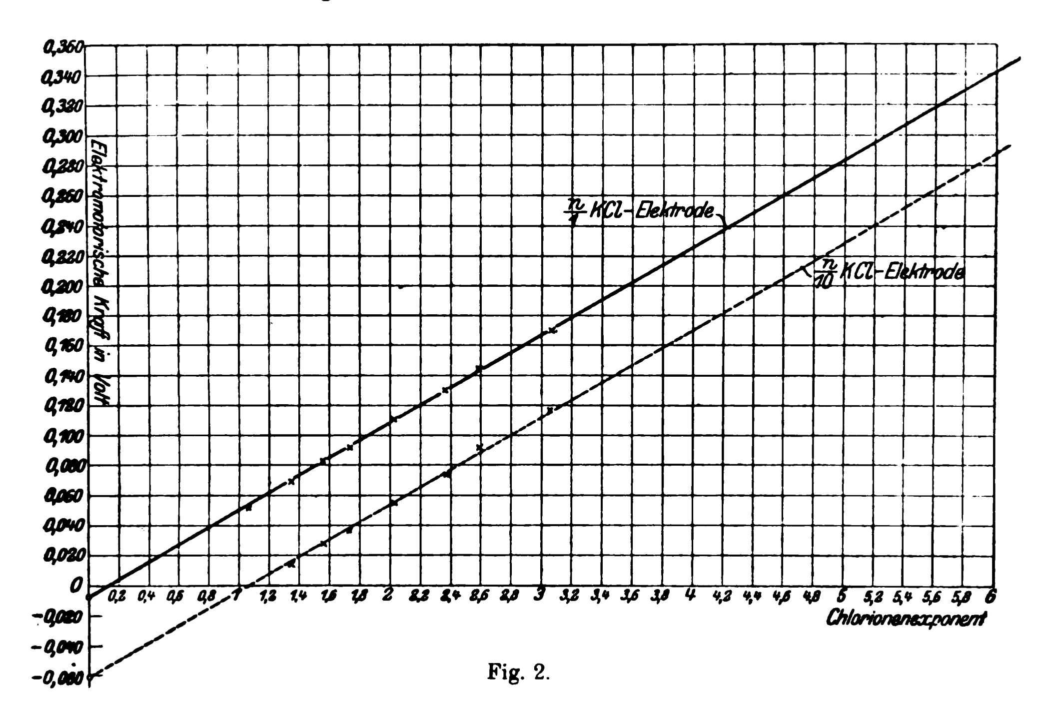


Fig. 2.

Was die technische Ausführung der Messungen anlangt, so geht man dabei am besten in der folgenden Weise vor. Als Elektrodengefäße kann man ganz gut die von Ostwald[1]) für Kalomel- und Metallelektroden angegebenen Glasgefäße benutzen. Bei Flüssigkeiten von geringer Leitfähigkeit gestaltet sich aber die Messung ziemlich schwierig. Um daher den absoluten Widerstand möglichst herabzusetzen, hat Pauli an der Ostwaldschen Elektrode einige Modifikationen angebracht, indem er erstens das keinen Abschluß besitzende Ableitungsrohr möglichst nahe dem Grunde des Gefäßes entspringen ließ, und zweitens dieses Rohr möglichst breit und kurz machte. Der Hahn, der den Luftabschluß bewirkt, befindet sich an einem seitlichen Ansatzstücke. Diese Elektrode hat sich ganz ausgezeichnet bewährt, indem die Empfindlichkeit der Versuchsanordnung bei Anwendung dieser Elektrode 3 bis 4 mal größer ist als bei Verwendung der üblichen Elektrodengefäße (Fig. 3)[2]).

---

[1]) Vgl. Ostwald-Luther, Physiko-chemische Messungen, 3. Aufl., S. 435.

[2]) Diese Elektrode wird von F. Köhler in Leipzig in den Handel gebracht.

Der Boden der Elektrode wird mit Quecksilber, in welches der zur Ableitung dienende Platindraht eintaucht[1]), und mit einem vorher mit der Untersuchungsflüssigkeit verriebenen oder geschüttelten Kalomelbrei gefüllt. Zur Verwendung gelangten ausschließlich nur reinste Präparate der Firma Kahlbaum. Das Kalomel wurde vor dem Gebrauch mit Quecksilber zu einem grauen Pulver verrieben. Die Untersuchungsflüssigkeit wird am besten erst mit ein wenig von diesem Kalomelquecksilberpulver durchgeschüttelt und nach Absetzen des Pulvers verwendet. Hierdurch wird eine raschere Sättigung der Flüssigkeit mit Kalomel erreicht, und es kommt daher zu baldiger Konstanz der elektromotorischen Kraft des gebildeten Elementes.

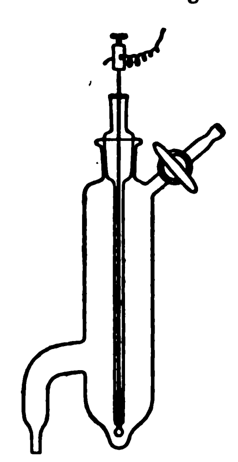


Fig. 3.

Die gefüllte Elektrode wird nun unter Vermittlung einer Zwischenflüssigkeit gegen die Bezugselektrode geschaltet, als die bei unseren Versuchen ausschließlich eine mit 1 n-KCl-Lösung gefüllte Kalomelnormalelektrode diente.

Die übrige Anordnung der Messung war dieselbe wie bei der elektrometrischen Bestimmung der Wasserstoffionenkonzentration. Da die Chlorionenkonzentration der Untersuchungsflüssigkeit in allen Fällen weitaus kleiner war als die der KCl-Lösung in der Bezugselektrode, so war die elektromotorische Kraft der letzteren immer kleiner als die der ersteren, d. h. der Strom geht außen von der Untersuchungselektrode zur Bezugselektrode.

Die Konstanz der elektromotorischen Kraft ist in den meisten Fällen bald erreicht, jedoch zeigen in dieser Hinsicht verschiedene Flüssigkeiten auch ein etwas verschiedenes Verhalten.

Bei Anwesenheit gewisser Substanzen erscheint eine auch nur halbwegs richtige Messung ganz ausgeschlossen, so z. B. verhindert schon Anwesenheit von geringsten Mengen eines Bromids die Möglichkeit einer Messung, entsprechend dem obigen Hinweise auf die Bedeutung einer Abnahme des Löslichkeitsproduktes mit (Hg) als Faktor; die Löslichkeit des Hg_2Cl_2 beträgt $1{,}10^{-6}$ Mol im Liter, die des Hg_2Br_2 hingegen nur $7 \cdot 10^{-8}$ Mol[2]).

Eine im Prinzip gleiche Bestimmungsmethode wurde in einer vor kurzen erschienenen Arbeit von Rohonyi[3]) verwendet; der Autor gibt aber nichts Näheres über die Berechnungsweise an, und außerdem ist

[1]) Es sei hier bemerkt, daß es sehr wichtig ist, daß der Platindraht vollständig in das Quecksilber taucht und nicht in direkte Berührung mit der Untersuchungsflüssigkeit kommt, da diese zu Störungen in der Potentialdifferenz Anlaß gibt.

[2]) Vgl. Rothmund, Löslichkeit und Löslichkeitsbeeinflussung, S. 126. Leipzig 1907.

[3]) Diese Zeitschr. 44, 1912.

die Anordnung keine derartige, daß eine Elimination des Diffusionspotentials vollständig erfolgen könnte, weshalb sie unseren Anforderungen nicht entsprechen würde.

Experimenteller Teil.

Eine exakte quantitative Untersuchung der Salzsäurebindung durch Eiweiß erschien im Hinblick auf die früheren Beobachtungen am Säureeiweiß und namentlich auf die daraus abgeleiteten theoretischen Erörterungen von hohem Interesse. Wir stellten uns daher zunächst die Aufgabe, mit Hilfe der soeben beschriebenen elektrometrischen Methoden die Größe der Chlor- und Wasserstoffionenbindung bei verschiedenen Säurekonzentrationen und konstantem Eiweißgehalt quantitativ zu bestimmen. Die Untersuchung wurde an dialysiertem Rinderserum, reinem Serumalbumin und am Glutin durchgeführt. Wir wollen zunächst die am Serum und am Albumin durchgeführten Versuche besprechen.

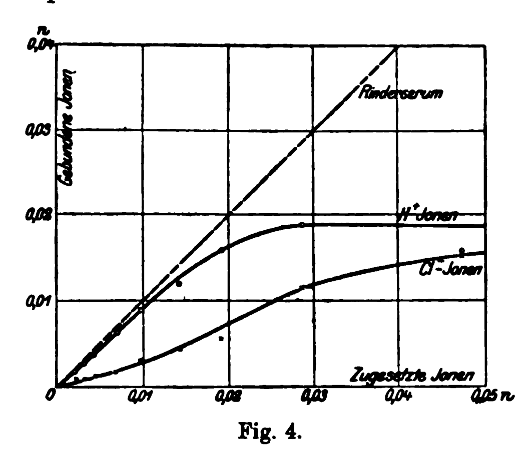


Fig. 4.

In dieser ersten Versuchsreihe sowie in allen folgenden, wo Serum zur Verwendung kam (mit Ausnahme des Versuchs in Tabelle Ia), benutzten wir als Untersuchungsmaterial ein sechs Wochen lang dialysiertes Rinderserum, das im unverdünnten Zustande einen Eiweißgehalt von 2,29 $^0/_0$ aufwies. Der Eiweißgehalt der mit Salzsäure versetzten Versuchslösungen betrug in allen Versuchen dieser ersten Serie 1,6 $^0/_0$. Die dabei erhaltenen Resultate sind in Tabelle I und in der dazu gehörigen Kurve (Fig. 4) dargestellt. In dieser Tabelle bedeutet π die elektro-

motorische Kraft der aus der Ableitungselektrode und der die Untersuchungsflüssigkeit enthaltenden Wasserstoff- bzw. Chlorionenelektrode gebildeten Kette. P_H und P_{Cl} bedeuten die daraus berechneten Wasserstoff- bzw. Chlorionenexponenten und C_H, C_{Cl} die sich hieraus ergebende Konzentration an freien Wasserstoff- bzw. Chlorionen. Eine weitere Rubrik enthält die vom Eiweiß gebundenen Ionen; die Berechnung derselben geschah durch Subtraktion der gefundenen freien Ionen von den in der entsprechenden reinen Säurelösung enthaltenen Ionen, die nach den von Kohlrausch angegebenen Dissoziationskonstanten berechnet wurden.

Eigentlich muß angenommen werden, daß der Dissoziationsgrad der Salzsäure durch die Anwesenheit des Eiweißes keine Veränderung erfährt; wir haben es ja in diesem Falle mit der Mischung zweier Chloride zu tun: nämlich der Salzsäure und des bei Salzsäurezusatz sich bildenden Eiweißchlorids. Nach Arrhenius ist aber der Dissoziationsgrad der Komponenten eines Gemisches aus zwei Elektrolyten, die ein Ion gemeinsam haben, gleich dem Dissoziationsgrad, den ein Elektrolyt für sich allein besitzen würde, wenn seine Konzentration jener gleich wäre, die das gemeinsame Ion in dem betrachteten Gemisch besitzt. Wird also zu Eiweiß Salzsäure in einer solchen Menge zugesetzt, daß ihre Konzentration im Falle, daß nichts weggebunden werden würde, z. B. 0,02 n betrüge, so hat nach Arrhenius die nach der Bindung verbleibende freie Salzsäure gleichfalls den Dissoziationsgrad einer 0,02 n-Salzsäure. Man müßte also bei der Berechnung eigentlich so verfahren, daß man zunächst die der gemessenen Wasserstoffionenmenge unter Berücksichtigung des betreffenden Dissoziationsgrades entsprechende nichtdissoziierte Salzsäure bestimmt, diese Konzentration zu der gefundenen Ionenkonzentration hinzuaddiert und die erhaltene Summe von der Gesamtmenge der zugesetzten Säure subtrahiert. Wir haben aber die einfachere, oben angeführte Berechnungsweise dieser komplizierteren vorgezogen, da die Unterschiede der nach diesen beiden Methoden erhaltenen Werte bei den verwendeten verdünnten und nahezu vollständig dissoziierten Lösungen so gering sind, daß sie als identisch angesehen werden können.

In der Kurve sind auf der Abszisse die Konzentrationen

der zugesetzten Wasserstoff- und Chlorionen, auf der Ordinate die gebundenen Ionen aufgetragen. Die gestrichelte Gerade gibt uns die Menge der überhaupt zur Verfügung stehenden freien H^+- bzw. Cl^--Ionen an, so daß man aus der Kurve zugleich die Menge der jeweiligen freien Ionen entnehmen kann.

Diese Versuchsreihe wurde noch an einem anderen Serum, das im unverdünnten Zustande eine Konzentration von 1,6 % besaß, wiederholt; die Eiweißlösung wurde bei jenem Versuche immer auf die Hälfte verdünnt, so daß die Versuchslösungen einen Eiweißgehalt von 0,8 % aufwiesen. Die gewonnenen Resultate finden sich in Tabelle Ia zusammengestellt.

Tabelle I.

Rinderserum (Endkonz. 1,61 %) + Salzsäure.

A. Wasserstoffionenbestimmung.

Gesamtkonzentration der HCl n	Ionenkonzention der reinen HCl	π (Volt)	P_H	C_H	Gebundene H-Ionen
$2\cdot10^{-3}$	0,001963	0,55341	4,6104	$2,45\cdot10^{-5}$	$1,94\cdot10^{-3}$
$3\cdot10^{-3}$	0,002937	0,52601	4,1420	$7,21\cdot10^{-5}$	$2,86\cdot10^{-3}$
$5\cdot10^{-3}$	0,004869	0,49676	3,6420	$2,28\cdot10^{-4}$	$4,64\cdot10^{-3}$
$7\cdot10^{-3}$	0,006799	0,48821	3,4878	$3,25\cdot10^{-4}$	$6,47\cdot10^{-3}$
$1\cdot10^{-2}$	0,009661	0,47558	3,2800	$5,25\cdot10^{-4}$	$9,14\cdot10^{-3}$
$1,5\cdot10^{-2}$	0,001432	0,43771	2,6326	$2,38\cdot10^{-3}$	$1,21\cdot10^{-2}$
$2\cdot10^{-2}$	0,019165	0,42904	2,4844	$3,28\cdot10^{-3}$	$1,59\cdot10^{-2}$
$3\cdot10^{-2}$	0,028512	0,40230	2,0203	$9,54\cdot10^{-3}$	$1,89\cdot10^{-2}$
$5\cdot10^{-2}$	0,046997	0,37182	1,5063	$3,116\cdot10^{-2}$	$1,58\cdot10^{-2}$

B. Chlorionenbestimmung.

Gesamtkonzentration der HCl n	π (Volt)	P_{Cl}	C_{Cl}	Gebundene Cl-Ionen
$2\cdot10^{-3}$	0,17126	3,0516	$8,88\cdot10^{-4}$	$1,08\cdot10^{-3}$
$3\cdot10^{-3}$	0,15197	2,7218	$1,90\cdot10^{-3}$	$1,04\cdot10^{-3}$
$5\cdot10^{-3}$	0,13732	2,4714	$3,38\cdot10^{-3}$	$1,49\cdot10^{-3}$
$7\cdot10^{-3}$	0,12751	2,3037	$4,97\cdot10^{-3}$	$1,83\cdot10^{-3}$
$1\cdot10^{-2}$	0,12135	2,1984	$6,33\cdot10^{-3}$	$3,32\cdot10^{-3}$
$1,5\cdot10^{-2}$	0,11211	2,0405	$9,11\cdot10^{-3}$	$5,32\cdot10^{-3}$
$2\cdot10^{-2}$	0,10266	1,8725	$1,34\cdot10^{-2}$	$5,75\cdot10^{-3}$
$3\cdot10^{-2}$	0,09807	1,8067	$1,56\cdot10^{-2}$	$1,29\cdot10^{-2}$
$5\cdot10^{-2}$	0,07928	1,4947	$3,30\cdot10^{-2}$	$1,50\cdot10^{-2}$

Tabelle Ia.

Rinderserum (Endkonz. 0,8 %) + Salzsäure.

A. Wasserstoffionenbestimmung.

Gesamt-HCl-Konzentration n	π (Volt)	P_H	C_H	Gebundene H-Ionen
$2 \cdot 10^{-3}$	0,55960	4,7324	$1,85 \cdot 10^{-5}$	$1,94 \cdot 10^{-3}$
$3 \cdot 10^{-3}$	0,52532	4,1182	$7,60 \cdot 10^{-5}$	$2,86 \cdot 10^{-3}$
$5 \cdot 10^{-3}$	0,48843	3,5112	$3,08 \cdot 10^{-4}$	$4,56 \cdot 10^{-3}$
$7 \cdot 10^{-3}$	0,46504	3,1313	$7,39 \cdot 10^{-4}$	$6,06 \cdot 10^{-3}$
$1 \cdot 10^{-2}$	0,44173	2,7290	$1,87 \cdot 10^{-3}$	$7,76 \cdot 10^{-3}$
$1,2 \cdot 10^{-2}$	0,42942	2,5080	$3,10 \cdot 10^{-3}$	$8,47 \cdot 10^{-3}$
$1,7 \cdot 10^{-2}$	0,40814	2,1418	$7,21 \cdot 10^{-3}$	$9,12 \cdot 10^{-3}$
$2 \cdot 10^{-2}$	0,40272	2,0341	$9,24 \cdot 10^{-3}$	$9,92 \cdot 10^{-3}$
$4 \cdot 10^{-2}$	0,37442	1,5847	$2,60 \cdot 10^{-2}$	$1,18 \cdot 10^{-2}$
$5 \cdot 10^{-2}$	0,37069	1,5008	$3,17 \cdot 10^{-2}$	$1,54 \cdot 10^{-2}$

B. Chlorionenbestimmung.

Gesamt-HCl-Konzentration n	π (Volt)	P_{Cl}	C_{Cl}	Gebundene Cl-Ionen
$3 \cdot 10^{-3}$	0,17890	3,1931	$6,41 \cdot 10^{-4}$	$2,30 \cdot 10^{-3}$
$5 \cdot 10^{-3}$	0,14930	2,7480	$1,82 \cdot 10^{-3}$	$3,05 \cdot 10^{-3}$
$7 \cdot 10^{-3}$	0,13394	2,4387	$3,64 \cdot 10^{-3}$	$3,16 \cdot 10^{-3}$
$1 \cdot 10^{-2}$	0,11777	2,1593	$6,93 \cdot 10^{-3}$	$2,73 \cdot 10^{-3}$
$1,2 \cdot 10^{-2}$	0,11790	1,9743	$7,01 \cdot 10^{-3}$	$4,56 \cdot 10^{-3}$
$1,7 \cdot 10^{-2}$	0,10913	1,9942	$1,01 \cdot 10^{-2}$	$6,19 \cdot 10^{-3}$
$2 \cdot 10^{-2}$	0,10514	1,9214	$1,20 \cdot 10^{-2}$	$7,18 \cdot 10^{-3}$
$4 \cdot 10^{-2}$	0,08648	1,5970	$2,53 \cdot 10^{-2}$	$1,25 \cdot 10^{-2}$
$5 \cdot 10^{-2}$	0,07507	1,4172	$3,83 \cdot 10^{-2}$	$8,70 \cdot 10^{-3}$

Da aber das Serum in Wirklichkeit keine einheitliche Proteinlösung darstellt, sondern trotz langer Dialyse immer noch etwas Globulin enthält, so erschien es wünschenswert, auch das Verhalten von reinem Albumin in dieser Richtung zu prüfen. Das zu diesem Zwecke verwendete Albumin wurde durch Halbsättigung von Rinderserum mit $(NH_4)_2SO_4$ vom Globulin getrennt und dann einer 6 wöchentlichen Dialyse unterworfen. Die Konzentration der dadurch erhaltenen Stammlösung betrug 2,19 %. Zum Zwecke der Untersuchung wurde die Stammlösung mit gleichen Teilen der entsprechenden Säurelösung versetzt, so daß die Albuminkonzentration der Untersuchungslösungen 1,09 % betrug. Die erhaltenen Resultate sind in Tabelle II und in der entsprechenden Kurve (Fig. 5) zusammengestellt.

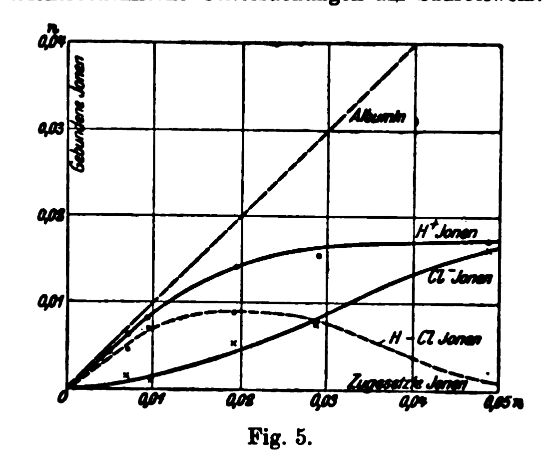


Fig. 5.

Tabelle II.

Rinderalbumin (Endkonz. 1,09 %) + Salzsäure ($T = 22^{0}$).

A. Wasserstoffionenbestimmung.

Gesamt-HCl-Konzentration n	π (Volt)	P_H	C_H	Gebundene H-Ionen
$5 \cdot 10^{-3}$	0,48321	3,4104	$3,89 \cdot 10^{-4}$	$4,48 \cdot 10^{-3}$
$7 \cdot 10^{-3}$	0,47753	3,3133	$4,75 \cdot 10^{-4}$	$6,32 \cdot 10^{-3}$
$1 \cdot 10^{-2}$	0,46417	3,0849	$8,22 \cdot 10^{-4}$	$8,84 \cdot 10^{-3}$
$2 \cdot 10^{-2}$	0,41798	2,2954	$5,07 \cdot 10^{-3}$	$1,41 \cdot 10^{-2}$
$(3 \cdot 10^{-2})$	—	—	—	$(1,52 \cdot 10^{-2}$ extr.)
$5 \cdot 10^{-2}$	0,37322	1,5355	$2,91 \cdot 10^{-2}$	$1,79 \cdot 10^{-2}$

B. Chlorionenbestimmung.

Gesamt-HCl-Konzentration n	π (Volt)	P_{Cl}	C_{Cl}	Gebundene Cl-Ionen
$5 \cdot 10^{-3}$	0,13113	2,3657	$4,31 \cdot 10^{-3}$	$5,61 \cdot 10^{-4}$
$7 \cdot 10^{-3}$	0,12965	2,3403	$4,57 \cdot 10^{-3}$	$2,23 \cdot 10^{-3}$
$1 \cdot 10^{-2}$	0,11472	2,0851	$8,22 \cdot 10^{-3}$	$1,39 \cdot 10^{-3}$
$2 \cdot 10^{-2}$	0,10170	1,8626	$1,37 \cdot 10^{-2}$	$5,44 \cdot 10^{-3}$
$3 \cdot 10^{-2}$	0,09092	1,6783	$2,10 \cdot 10^{-2}$	$7,54 \cdot 10^{-3}$
$5 \cdot 10^{-2}$	0,08120	1,5173	$3,04 \cdot 10^{-2}$	$1,66 \cdot 10^{-2}$

Aus diesen Resultaten läßt sich nun folgendes entnehmen. Bei fortschreitender Zunahme der Säurekonzentration nimmt die Wasserstoffionenbindung bis zu einem Maximum allmählich zu, worauf bei weiterem Säurezusatz keine weitere Bindung erfolgt. (Von etwaigen sekundären Wirkungen, wie sie durch den Abbau des Eiweißes in höheren Säurekonzentrationen be-

wirkt werden, sehen wir natürlich ab.) In niederen Konzentrationen (im Versuche 1 und 2 bis etwa 0,01 n und im Versuche 1a bis etwa 0,007 n) ist diese Bindung eine nahezu vollständige, es verschwindet fast die ganze Menge der zur Verfügung stehenden Wasserstoffionen. Bei weiterer Erhöhung der Säurekonzentration bleibt eine immer größere Menge von Wasserstoffionen frei, die Zunahme der Wasserstoffionenbindung wird geringer, bis schließlich bei weiterer Erhöhung der Säurekonzentration keine wesentliche Bindung mehr erfolgt. Die Größe dieser maximalen Wasserstoffionenbindung ist in erster Linie von der Menge des vorhandenen Eiweißes abhängig; sie betrug in unserem Falle 0,015 bis 0,0189 n und wurde bei einem Zusatz von ungefähr 0,03 bis 0,05 n-HCl erreicht. Eine scharfe Bestimmung des Punktes, in dem die maximale Bindung erreicht wird, ist natürlich nicht möglich, da, wie schon erwähnt, das Maximum ganz allmählich erreicht wird und der Verlauf der Kurve bei diesen höheren Konzentrationen ein sehr flacher ist.

Die Chlorionen erfahren gleichfalls mit Zunahme der Säurekonzentration eine Zunahme ihrer Bindung an das Eiweiß. Wie aber schon Bugarszky und Liebermann[1]), die mit konstantem Säuregehalt und wechselndem Eiweißgehalt arbeiteten, bemerkt hatten, ist diese Bindung geringer als die der Wasserstoffionen. Aus den hier dargestellten Kurven ist zu entnehmen, daß in den niederen Konzentrationen zunächst nur eine geringe Bindung erfolgt, die aber dann etwas rascher zunimmt; in höheren Konzentrationen nähert sich schließlich die gebundene Chlorionenmenge allmählich der Menge der gebundenen Wasserstoffionen, so daß bei einer Säurekonzentration von ungefähr 0,05 n gleichviel Wasserstoff- wie Chlorionen an das Eiweiß gebunden erscheinen. Auf jeden Fall ist unter dieser Konzentration die Bindung der Chlorionen weitaus geringer als die der Wasserstoffionen.

Bestimmt man nun die Differenz, die in jedem Punkte der Konzentration zwischen gebundenen Wasserstoffionen und gebundenen Chlorionen besteht, so sehen wir, daß der absolute Wert dieser Differenz zunächst ganz klein ist, dann bis zu einem Maximum ansteigt, um hierauf ganz allmählich bis annähernd auf Null abzusinken. In der nun folgenden Tabelle

[1]) Arch. f. d. ges. Physiol. 72, 69, 1898.

sind die aus den drei soeben dargelegten Versuchsserien berechneten Differenzen der Wasserstoff- bzw. Chlorionenbindung angegeben; von den beiden Sera wurde auch die Viscosität in den verschiedenen Konzentrationen bestimmt, deren Werte sich in den daneben stehenden Rubriken angeführt finden (Tabelle III). In Fig. 6 sind die H^+ — Cl^--Differenzen, sowie die zugehörige Reibungskurve des 1,61 %igen Rinderserums dargestellt.

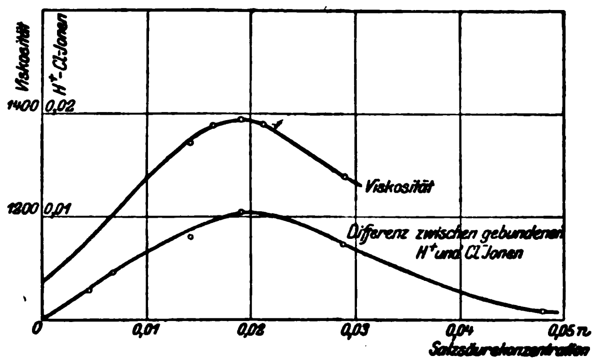


Fig. 6.

Tabelle III.

Gesamt-HCl-Konzentration n	Rinderserum (1,61 %)		Rinderserum (0,8 %)		Albumin
	H^+ — Cl^-	$\frac{t}{t_0}$	H^+ — Cl^-	$\frac{t}{t_0}$ [1]	H^+ — Cl^-
0	—	1,0774	—	1,0350	—
$2 \cdot 10^{-3}$	$8,64 \cdot 10^{-4}$	—	—	1,0552	—
$3 \cdot 10^{-3}$	$1,83 \cdot 10^{-3}$	—	$5,65 \cdot 10^{-4}$	—	—
$4 \cdot 10^{-3}$	—	—	—	1,0792	—
$5 \cdot 10^{-3}$	$3,15 \cdot 10^{-3}$	—	$1,51 \cdot 10^{-3}$	—	$3,85 \cdot 10^{-3}$
$6 \cdot 10^{-3}$	—	—	—	1,1326	—
$7 \cdot 10^{-3}$	$4,64 \cdot 10^{-3}$	—	$3,01 \cdot 10^{-3}$	—	$4,09 \cdot 10^{-3}$
$1 \cdot 10^{-2}$	$5,81 \cdot 10^{-3}$	—	$5,03 \cdot 10^{-3}$	1,2044	$7,45 \cdot 10^{-3}$
$1,2 \cdot 10^{-2}$	—	—	$3,94 \cdot 10^{-3}$	1,2117	—
$1,5 \cdot 10^{-2}$	$6,72 \cdot 10^{-3}$	1,3426	—	—	—
$1,6 \cdot 10^{-2}$	—	—	—	1,2044	—
$1,7 \cdot 10^{-2}$	—	1,3832	$2,94 \cdot 10^{-3}$	—	—
$2 \cdot 10^{-2}$	$1,01 \cdot 10^{-2}$	1,3914	$2,74 \cdot 10^{-3}$	1,1860	$8,65 \cdot 10^{-3}$
$2,2 \cdot 10^{-2}$	—	1,3845	—	—	—
$3 \cdot 10^{-2}$	$6,06 \cdot 10^{-3}$	1,2893	—	—	$7,66 \cdot 10^{-3}$
$4 \cdot 10^{-2}$	—	—	$-7,30 \cdot 10^{-4}$	1,1197	—
$5 \cdot 10^{-2}$	$8,50 \cdot 10^{-4}$	—	$6,70 \cdot 10^{-3}$	1,1070	$1,24 \cdot 10^{-3}$

[1] Die Viscositätswerte dieses Serums sind einer an diesem Institute ausgeführten Arbeit von Johanne Christiansen entnommen. Diese Zeitschr. 47, 229, Tabelle II.

Vergleichen wir in diesen Tabellen die Werte der Differenzen zwischen gebundenen Wasserstoff- und gebundenen Chlorionen, so läßt sich die bemerkenswerte Tatsache konstatieren, daß das Maximum der Differenz zwischen der Bindung der Wasserstoff- und Chlorionen mit dem Reibungsmaximum des betreffenden Serums zusammenfällt. Es ist somit direkt erwiesen, daß das Reibungsmaximum des Serumalbumins, wie dies durch die vorhergegangenen Arbeiten an diesem Institute in so zahlreichen Fällen indirekt erwiesen wurde, tatsächlich dem Maximum der Ionisation entspricht.

Wir sehen weiter, daß schon freie Wasserstoffionen vorhanden sind, wenn die maximale Wasserstoffionenbindung noch nicht erreicht ist. Die Zahl der freien Wasserstoffionen ist zwar in niederen Säurekonzentrationen sehr gering, so daß man von einer nahezu vollständigen Bindung sprechen kann, jedoch wird ihre Zahl mit wachsender Konzentration beständig und bedeutend größer. Unter diesen Umständen hielten wir auch einen Versuch über die Säurebindung bei konstantem Säuregehalt, aber wechselndem Eiweißgehalt von großem Interesse. Den Versuchen von Bugarszky und Liebermann liegt ja ausschließlich eine derartige Anordnung zugrunde. Aus ihren Angaben läßt sich entnehmen, daß die Wasserstoff- und Chlorionenbindung bei geringer Eiweißkonzentration annähernd proportional der Eiweißkonzentration wächst, daß aber in höheren Konzentrationen diese Bindung nicht mehr einfach proportional der vorhandenen Eiweißmenge ist; es wird nämlich bei größeren Eiweißkonzentrationen relativ weniger gebunden als bei niedrigeren. Der konstante Säurezusatz betrug in den Versuchen der erwähnten Autoren 0,05 n-HCl; dies ist jedoch eine Konzentration, bei der bei dem von uns verwendeten Eiweißgehalt (0,8 bis 1,61) nahezu kein Unterschied in der H- und Cl-Ionenbindung nachweisbar ist. Auch in den Versuchen Liebermanns und Bugarszkys war die beobachtete H- und Cl-Ionenbindung in Konzentrationen bis zu 3,2 % Eiweiß nicht verschieden, erst bei einer Eiweißkonzentration von 6,4 % beobachteten sie eine stärkere Bindung von H als von Cl. Wir wiederholten daher diese Versuchsreihe bei einem konstanten Säurezusatz von 0,02 n-HCl. Zur Benutzung kam das 2,29 %ige Rinderserum, das in verschiedenen Verdünnungen angewendet

wurde. Die Eiweißkonzentrationen schwankten von 0,46 bis 1,73 % und standen zueinander in dem Verhältnis 1 : 2 : 3 : 4. Das gewonnene Ergebnis ist in Tabelle IV und der entsprechenden Kurve (Fig. 7) dargestellt.

Tabelle IV.

Rinderserum (Ausgangskonz. 2,29 %) in verschiedenen Verdünnungen + 0,02 n-HCl.

A. Wasserstoffionenbestimmung.

Eiweißkonzentration %	π (Volt)	P_H	C_H	H (geb.)
0,46	0,39550	1,9242	$1{,}19\cdot10^{-2}$	$7{,}26\cdot10^{-3}$
0,92	0,40602	2,1052	$7{,}85\cdot10^{-3}$	$1{,}13\cdot10^{-2}$
1,37	0,41995	2,3448	$5{,}69\cdot10^{-3}$	$1{,}35\cdot10^{-2}$
1,73	0,43210	2,5542	$2{,}79\cdot10^{-3}$	$1{,}64\cdot10^{-2}$

B. Chlorionenbestimmung.

Eiweißkonzentration %	π (Volt)	P_{Cl}	C_{Cl}	Cl (geb.)
0,46	0,09732	1,8000	$1{,}58\cdot10^{-2}$	$3{,}31\cdot10^{-3}$
0,92	0,10107	1,8645	$1{,}37\cdot10^{-2}$	$5{,}50\cdot10^{-3}$
1,37	0,10460	1,9253	$1{,}19\cdot10^{-2}$	$7{,}32\cdot10^{-3}$
1,73	0,10184	1,8777	$1{,}33\cdot10^{-2}$	$5{,}94\cdot10^{-3}$

Diese Versuche (Fig. 7) zeigen, daß bei einer konstanten HCl-Konzentration von 0,02 n weder die H- noch die Cl-Ionenbindung einfach proportional der Eiweißkonzentration verläuft. Wir sehen, daß schon von allem Anfang an die Bindung der Wasserstoffionen keine proportionale ist, sondern daß bei stärkeren Eiweißkonzentrationen verhältnismäßig weniger H als bei niederen gebunden wird. Es bindet in unserem Falle die 4 fache Eiweißmenge nur um ein wenig mehr als das Doppelte der Wasserstoffionen, die von der einfachen Eiweißmenge gebunden werden. Die Chlorionenbindung ist auch schon

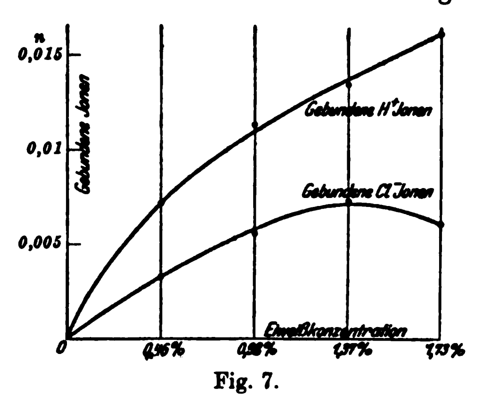


Fig. 7.

in der niedersten zur Anwendung gelangten Eiweißkonzentration bedeutend geringer als die H-Ionenbindung. Wir beobachten aber weiter, daß die Chlorionenbindung für eine gewisse Eiweißkonzentration ein Maximum erreicht, um sodann wieder etwas abzusinken. Dies ist leicht verständlich; es verhält sich eben stärker konzentriertes Eiweiß so wie schwächer konzentriertes bei einer niedrigeren Säurekonzentration, indem die Chlorionenbindung geringer ist.

Wir wollen hier noch auf einen Umstand hinweisen, der methodisch sowohl als auch theoretisch einiges Interesse besitzt. Es handelt sich um die Veränderung, die das Eiweiß bei längerem Stehen mit Säure erleidet. Dabei hat sich nämlich gezeigt, daß dabei, namentlich wenn die Säurekonzentration 0,02 n-HCl (1 $^0/_0$ Eiweiß) überschreitet, eine zeitliche, mehr oder weniger rasche Abnahme der Chlorionenbindung stattfindet. Diese Abnahme geht bis zu einer bestimmten Grenze, worauf die Cl-Ionenbindung konstant bleibt. Die Geschwindigkeit, mit der dieser Abfall der Chlorionenbindung vor sich geht, ist teilweise abhängig von der Herstellungsart der Versuchslösung. Eine 0,05 n-HCl-Eiweißlösung kann man sich herstellen, indem man eine bestimmte Menge Eiweiß mit der gleichen Menge einer 0,1 n-HCl-Lösung versetzt, oder aber indem zu dem Eiweiß die dieser Konzentration entsprechende Salzsäuremenge in Form einer stärkeren Säure, etwa einer 1 n-HCl, hinzugefügt und das fehlende Volumen durch Auffüllen mit Wasser ergänzt wird. Es hat sich gezeigt, daß es durchaus nicht gleichgültig ist, welches von diesen beiden Verfahren verwendet wird. Im ersteren Falle bleibt die gebundene Cl-Ionenmenge anfänglich für einige Zeit, ca. 2 Stunden, konstant, erst später wird eine Abnahme bemerkbar, die nach ungefähr 10 bis 15 Stunden zu Ende gelangt. Anders im Falle, wo die Lösung durch Zusatz einer konzentrierteren Säure und nachheriger Verdünnung hergestellt wurde. In diesem Falle tritt die Abnahme der Chlorionenbindung sofort in Erscheinung, und zwar kann man den Abfall direkt während der Messung beobachten. In ca. 2 Stunden kann er schon beendigt sein; das schließlich erreichte Endresultat ist in beiden Fällen das gleiche. Das folgende Beispiel möge zur Illustrierung des Gesagten dienen.

Tabelle V.

(Chlorionenbestimmung.)

Rinderalbumin (1,14 %) + 0,05 n-HCl.

Hergestellt: 25 ccm 2,29 %iges Albumin + 25 ccm 0,1 n-HCl.

Zeit nach der Herstellung	π (Volt)	P_H	C_H	Gebundene Cl-Ionen
45 Min.	0,08210	1,5847	$2{,}83\cdot10^{-2}$	$1{,}87\cdot10^{-2}$
120 "	0,08210	1,5847	$2{,}83\cdot10^{-2}$	$1{,}87\cdot10^{-2}$
15 Std.	0,07037	1,3454	$4{,}54\cdot10^{-2}$	$1{,}58\cdot10^{-3}$

Tabelle Va.

(Chlorionenbestimmung.)

Rinderalbumin (1,14 %) + 0,05 n-HCl.

Hergestellt: 25 ccm 2,29 %iges Albumin + 2,5 ccm 1 n-HCl + 22,5 ccm H_2O.

Zeit nach der Herstellung	π (Volt)	P_{Cl}	C_{Cl}	Gebundene Cl-Ionen
10 Min.	0,07896	1,4941	$3{,}21\cdot10^{-2}$	$1{,}49\cdot10^{-2}$
30 "	0,07435	1,4144	$3{,}85\cdot10^{-2}$	$8{,}48\cdot10^{-3}$
60 "	0,07246	1,3816	$4{,}15\cdot10^{-2}$	$5{,}46\cdot10^{-3}$
80 "	0,07163	1,3672	$4{,}29\cdot10^{-2}$	$4{,}06\cdot10^{-3}$
120 "	0,07058	1,3460	$4{,}51\cdot10^{-2}$	$1{,}92\cdot10^{-3}$
15 Std.	0,07058	1,3460	$4{,}51\cdot10^{-2}$	$1{,}92\cdot10^{-3}$

Diese Versuche zeigen uns, daß diese Abnahme der Chlorionenbindung eine ganz außerordentliche ist, indem der größte Teil der einmal gebundenen Chlorionen wieder frei wird. Analog verhält sich auch das dialysierte Rinderserum, nur scheint hier diese Veränderung noch etwas rascher vor sich zu gehen. Daraus ergibt sich für die Herstellung der Versuchslösungen die Regel, niemals von allzu konzentrierten Säurelösungen auszugehen, sondern die gewünschte Konzentration unter Zuhilfenahme möglichst verdünnter Säurelösungen darzustellen.

Ob Ähnliches wie für die Cl-Ionen unter unseren Versuchsbedingungen für die Wasserstoffionen gilt, können wir nicht mit Sicherheit behaupten, da wir keine speziellen Versuche darüber angestellt haben. Einige Abweichungen in unseren Tabellen scheinen für eine schwache zeitliche Abnahme der Bindung der H-Ionen zu sprechen. Jedenfalls läßt sich mit Sicherheit behaupten, daß, wenn eine Abnahme der H-Ionenbindung mit der Zeit stattfinden sollte, diese keineswegs sehr bedeutend ist. Für die Chlorionenbestimmungen ist es entschieden angezeigt,

die Flüssigkeiten nicht allzulange stehen zu lassen, sondern sofort nach ihrer Herstellung zu messen. In Fällen, wo sich bei der Messung eine fortschreitende Abnahme der elektromotorischen Kraft beobachten läßt, ist in Betracht zu ziehen, daß die zuerst beobachteten höheren Werte der ursprünglich in der Lösung vorhandenen Cl-Ionenkonzentration am nächsten kommen.

Die gesonderte Stellung, die das Glutin unter den übrigen Proteinstoffen einnimmt, ließ eine spezielle Untersuchung dieses Körpers von großem Interesse erscheinen. Als Versuchsmaterial diente eine mehrere Wochen hindurch sorgfältig dialysierte Gelatine, von der wir uns eine 2 °/₀ige Stammlösung herstellten, die für den Versuch zu gleichen Teilen mit den entsprechenden Säurelösungen verdünnt wurde, so daß die Gelatinekonzentration der Versuchslösungen in allen Fällen 1 °/₀ betrug. Da die Lösungen bei Zimmertemperatur gewöhnlich erstarrt sind, so wurden sie zunächst durch gelindes Erwärmen verflüssigt, um in die Elektrode eingefüllt werden zu können, bei welcher Prozedur sie rasch wieder die Zimmertemperatur annahmen. In Tabelle VI und Kurve Fig. 8 sind die Resultate einer derartigen Versuchsreihe zusammengestellt.

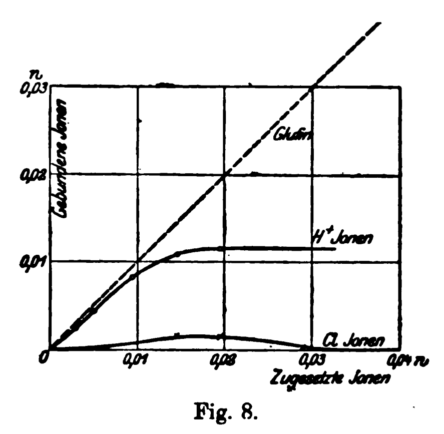


Fig. 8.

Tabelle VI.

Glutin (1 °/₀) + HCl.

A. Wasserstoffionenbestimmung.

HCl-Konzentration	π (Volt)	P_H	C_H	Gebundene H-Ionen
$3{,}0 \cdot 10^{-3}$	0,55070	4,7350	$1{,}84 \cdot 10^{-5}$	$2{,}92 \cdot 10^{-3}$
$5{,}0 \cdot 10^{-3}$	0,51594	3,9700	$1{,}07 \cdot 10^{-4}$	$4{,}76 \cdot 10^{-3}$
$7{,}0 \cdot 10^{-3}$	0,50614	3,8024	$1{,}58 \cdot 10^{-4}$	$6{,}64 \cdot 10^{-3}$
$1{,}0 \cdot 10^{-2}$	0,45977	3,0098	$9.78 \cdot 10^{-4}$	$8{,}68 \cdot 10^{-3}$
$1{,}5 \cdot 10^{-2}$	0,42664	2,4434	$3{,}60 \cdot 10^{-3}$	$1{,}08 \cdot 10^{-2}$
$2{,}0 \cdot 10^{-2}$	0,40630	2,0957	$8{,}02 \cdot 10^{-3}$	$1{,}11 \cdot 10^{-2}$

B. Chlorionenbestimmung.

HCl-Konzentration	π (Volt)	P_{Cl}	C_{Cl}	Gebundene Cl-Ionen
$3{,}0 \cdot 10^{-3}$	0,13833	2,4972	$3{,}18 \cdot 10^{-3}$	0
$5{,}0 \cdot 10^{-3}$	0,12638	2,3161	$4{,}83 \cdot 10^{-3}$	$4{,}00 \cdot 10^{-5}$
$7{,}0 \cdot 10^{-3}$	0,11913	2,1905	$6{,}45 \cdot 10^{-3}$	$3{,}40 \cdot 10^{-4}$
$1{,}0 \cdot 10^{-2}$	0,00835	2,0036	$9{,}92 \cdot 10^{-3}$	0
$1{,}5 \cdot 10^{-2}$	0,10218	1,8967	$1{,}27 \cdot 10^{-2}$	$1{,}75 \cdot 10^{-3}$
$2{,}0 \cdot 10^{-2}$	0,09414	1,7435	$1{,}81 \cdot 10^{-2}$	$1{,}11 \cdot 10^{-3}$
$3{,}0 \cdot 10^{-2}$	0,08091	1,5280	$2{,}96 \cdot 10^{-2}$	0
$5{,}0 \cdot 10^{-2}$	0,06869	1,3072	$4{,}93 \cdot 10^{-2}$	0

Aus diesen Daten ist zunächst zu ersehen, daß die Wasserstoffionenbindung der Gelatine in den niederen Konzentrationen eine ziemlich vollständige ist; die maximale Bindungsfähigkeit scheint nicht so groß zu sein wie die des Albumins bzw. des Rinderserums und ist anscheinend schon bei 0,02 n-HCl erreicht. Sie beträgt für 1 % Glutin ca. $1{,}1 \cdot 10^{-2}$ n.

Auffallend ist hingegen das Verhalten der Cl-Ionenbindung. Es werden in den niederen Konzentrationen praktisch gar keine Cl-Ionen gebunden. Erst bei einer HCl-Konzentration von 0,015 n erscheint eine geringe Bindung, die gegen 0,0018 n beträgt; aber schon in der nächstfolgenden Konzentration wird nur mehr 0,001 n gebunden, und in den Konzentrationen von 0,03 n und 0,05 n erscheinen wieder alle Cl-Ionen frei. Nach dem oben bezüglich der zeitlichen Veränderung der Chlorionenbindung Gesagten liegt der Gedanke nahe, an einen sehr raschen Abfall der Chlorionenbindung zu denken. Wir wiederholten daher den Versuch mit 0,05 n-HCl in der Weise, daß der Säurezusatz knapp vor der Messung in der Elektrode vorgenommen und nun hierauf sofort die Messung vorgenommen wurde. Das Resultat war fast genau dasselbe wie das oben in der Tabelle verzeichnete. Die elektromotorische Kraft war 0,06934 Volt, was also einer Chlorionenkonzentration von 0,04703 n entspricht. Die Bindung ist auch in diesem Falle vollständig als Null anzusehen.

Schließlich war es noch von Interesse, ein Eiweißderivat zu untersuchen, das keine endständige Aminogruppen mehr besaß. Unter den Desaminoproteinen erweist sich aber nur das Desaminoglutin als wasserlöslich, und demnach allein für unsere Zwecke verwendbar. Das Desaminoglutin wurde nach der von

Z. Skraup[1]) angegebenen Methode aus gewöhnlicher Gelatine durch Kochen mit Natriumnitrit und Essigsäure dargestellt und hierauf längere Zeit dialysiert.

Freilich dürfte dieses Produkt kein reines Desaminoglutin darstellen, sondern daneben auch schon tiefere Spaltprodukte des Glutins enthalten. Unser Desaminoglutin wurde einer 8 wöchigen Dialyse unterworfen und wies hernach nur den geringen Trockengehalt von 0,3 $^0/_0$ auf. Der Trockengehalt der Versuchslösungen, die zu gleichen Teilen mit den entsprechenden Säurelösungen verdünnt wurden, betrug also 0,15 $^0/_0$. Das Versuchsergebnis ist in Tabelle VII enthalten.

Tabelle VII.

Desaminoglutin (Endkonz. 0,15 $^0/_0$) + HCl.

A. Wasserstoffionenbestimmung.

HCl-Konzentration n	π (Volt)	P_H	C_H	Gebundene H-Ionen
$5 \cdot 10^{-3}$	0,42752	2,4585	$3{,}48 \cdot 10^{-3}$	$1{,}39 \cdot 10^{-3}$
$7 \cdot 10^{-3}$	0,41887	2,3107	$4{,}89 \cdot 10^{-3}$	$1{,}91 \cdot 10^{-3}$
$1 \cdot 10^{-2}$	0,40830	2,1372	$7{,}29 \cdot 10^{-3}$	$2{,}37 \cdot 10^{-3}$

B. Chlorinenbestimmung.

HCl-Konzentration n	π (Volt)	P_{Cl}	C_{Cl}	Gebundene Cl-Ionen
$5 \cdot 10^{-3}$	0,12840	2,3190	$6{,}03 \cdot 10^{-3}$	0
$7 \cdot 10^{-3}$	0,11630	2,1122	$7{,}77 \cdot 10^{-3}$	0
$1 \cdot 10^{-2}$	0,10700	1,9598	$1{,}09 \cdot 10^{-2}$	0

Diese Tabelle zeigt, daß trotz der geringen Menge von Desaminoglutin verhältnismäßig ziemlich beträchtliche Mengen von Wasserstoff gebunden werden, die mit dem Konzentrationsanstieg der Säure zunehmen. Chlorionen hingegen werden nicht gebunden. Das geringe Material, das uns von anderweitigen Versuchen am Institute momentan zur Verfügung stand, gestattete uns leider nicht, diesen interessanten Körper einer eingehenderen Untersuchung zu unterziehen, und wir müssen uns daher vorläufig auf diese spärlichen Mitteilungen beschränken, die durch die spätere Mitteilung von mit anderen Methoden

[1]) Akad. d. Wissensch. in Wien, math.-nat. Kl. II b 115, 1906.

durchgeführten Untersuchungen an diesem theoretisch so wichtigen Körper ihre Ergänzung finden sollen.

Wie frühere Untersuchungen an diesem Institute gezeigt haben, ist der Zusatz von Neutralsalz für das Verhalten des Säure- wie des Alkalieiweißes von größter Bedeutung, indem dadurch die Hydratation und wohl auch die Ionisation des Eiweißes eine Abnahme erfährt[1]). Hiermit sind die verschiedenen zu beobachtenden physikalischen Zustandsänderungen des ionischen Eiweißes durch Salzzusatz zu erklären, als da sind: Abnahme der Viscosität, der Wanderung im elektrischen Feld, die Quellungsabnahme, Wiederauftreten der Koagulation durch Hitze und Alkohol usw.[2])

In Hinsicht auf diese Tatsachen mußte eine Untersuchung des Verhaltens der Wasserstoff- und Chlorionenbindung von ionischem Eiweiß bei Salzzusatz von großem Interesse erscheinen, um so mehr, als theoretischen Erwägungen zufolge gerade die Verhältnisse der Wasserstoff- und Chlorionenbindung eine nicht unwesentliche Veränderung bei dieser Abnahme der Ionisation durch Neutralsalz erfahren sollten. Zur Methodik dieser Versuche ist zu bemerken, daß es bei den von uns verwendeten elektrometrischen Methoden durchaus nicht möglich ist, jedes beliebige Neutralsalz zu verwenden; dies gilt sowohl für die elektrometrische Bestimmung der Wasserstoffionen, als in noch höherem Grade für die der Chlorionen.

So haben wir gefunden, daß eine etwas größere Konzentration von Bromid zu Unregelmäßigkeiten in der Bestimmung der Wasserstoffionen führt (vermutlich infolge Vergiftung der Elektroden durch Spuren freien Broms). Daß eine Chlorionenbestimmung bei Gegenwart sehr geringer Mengen von Bromiden gänzlich unmöglich ist, wurde schon früher dargelegt. Wir stellten Versuchsreihen mit folgenden Neutralsalzen an: $NaNO_3$, NaBr und KCl. Beim Natriumbromid mußten wir uns auf die Bestimmung der Wasserstoffionen bei niederen Salzkonzentrationen beschränken. Die Versuche wurden derart ausgeführt, daß in einer Versuchsserie immer der Säuregehalt konstant gehalten

---

[1]) Pauli und Handovsky, diese Zeitschr. 18, 1909.

[2]) Näheres hierüber in der zusammenfassenden Abhandlung Paulis, „Die kolloiden Zuständsänderungen der Eiweißkörper“. Fortschritte d. naturw. Forschung, herausg. von Abderhalden 5, 1912.

wurde und nun steigende Mengen der betreffenden Neutralsalze hinzugefügt wurden. Die folgenden Tabellen geben die bei Zusatz von Natriumnitrat und Natriumbromid gewonnenen Resultate wieder. Zur Verwendung gelangte in allen Fällen das 2,29%ige Rinderserum. In den Versuchen mit $NaNO_3$ wurde das Serum derart verdünnt, daß seine Konzentration 1,16% betrug, während in allen übrigen Versuchen das Serum auf die Hälfte verdünnt wurde, so daß es also eine Eiweißkonzentration von 1,14% besaß.

Tabelle VIII.

Rinderserum (Endkonz. 1,61%) + 0,005 n-HCl + $NaNO_3$.

A. Wasserstoffionenbestimmung.

$NaNO_3$-Konzentration n	π (Volt)	P_H	C_H	Gebundene H-Ionen
0	0,49804	3,7030	$1,98 \cdot 10^{-4}$	$4,70 \cdot 10^{-3}$
$2 \cdot 10^{-3}$	0,50700	3,8567	$1,39 \cdot 10^{-4}$	$4,76 \cdot 10^{-3}$
$5 \cdot 10^{-3}$	0,51580	4,0087	$9,80 \cdot 10^{-5}$	$4,77 \cdot 10^{-3}$
$7 \cdot 10^{-3}$	0,51774	4,0415	$9,09 \cdot 10^{-5}$	$4,78 \cdot 10^{-3}$
$1 \cdot 10^{-2}$	0,51755	4,0380	$9,16 \cdot 10^{-5}$	$4,78 \cdot 10^{-3}$
$2 \cdot 10^{-2}$	0,52115	4,1002	$7,64 \cdot 10^{-5}$	$4,79 \cdot 10^{-3}$
$5 \cdot 10^{-2}$	0,53500	4,3402	$4,57 \cdot 10^{-5}$	$4,82 \cdot 10^{-3}$

B. Chlorionenbestimmung.

$NaNO_3$-Konzentration n	π (Volt)	P_{Cl}	C_{Cl}	Gebundene Cl-Ionen
0	0,13501	2,4515	$3,54 \cdot 10^{-3}$	$1,33 \cdot 10^{-3}$
$2 \cdot 10^{-3}$	0,13785	2,5062	$3,12 \cdot 10^{-3}$	$1,75 \cdot 10^{-3}$
$5 \cdot 10^{-3}$	0,13371	2,4347	$3,68 \cdot 10^{-3}$	$1,19 \cdot 10^{-3}$
$7 \cdot 10^{-3}$	0,13665	2,4838	$3,28 \cdot 10^{-3}$	$1,58 \cdot 10^{-3}$
$1 \cdot 10^{-2}$	0,13453	2,4488	$3,56 \cdot 10^{-3}$	$1,31 \cdot 10^{-3}$
$2 \cdot 10^{-2}$	0,13541	2,4698	$3,39 \cdot 10^{-3}$	$1,48 \cdot 10^{-3}$
$5 \cdot 10^{-2}$	0,13530	2.4621	$3,45 \cdot 10^{-3}$	$1,42 \cdot 10^{-3}$

Tabelle VIIIa.

Rinderserum (Endkonz. 1,61%) + 0,02 n-HCl + $NaNO_3$.

A. Wasserstoffionenbestimmung.

$NaNO_3$-Konzentration n	π (Volt)	P_H	C_H	Gebundene H-Ionen
0	0,43481	2,6008	$2,51 \cdot 10^{-3}$	$1,67 \cdot 10^{-2}$
$2 \cdot 10^{-3}$	0,42849	2,4835	$3,28 \cdot 10^{-3}$	$1,59 \cdot 10^{-2}$
$5 \cdot 10^{-3}$	0,43037	2,5244	$2,99 \cdot 10^{-3}$	$1,62 \cdot 10^{-2}$
$7 \cdot 10^{-3}$	0,43088	2,5245	$2,99 \cdot 10^{-3}$	$1,62 \cdot 10^{-2}$
$1 \cdot 10^{-2}$	0,43176	2,5396	$2,89 \cdot 10^{-3}$	$1,63 \cdot 10^{-2}$
$2 \cdot 10^{-2}$	0,43186	2,5414	$2,87 \cdot 10^{-3}$	$1,63 \cdot 10^{-2}$
$5 \cdot 10^{-2}$	0,43684	2,6264	$2,36 \cdot 10^{-3}$	$1,68 \cdot 10^{-2}$

B. Chlorionenbestimmung.

$NaNO_3$-Konzentration n	π (Volt)	P_{Cl}	C_{Cl}	Gebundene Cl-Ionen
0	0,10300	1,9043	$1,25 \cdot 10^{-2}$	$6,70 \cdot 10^{-3}$
$2 \cdot 10^{-3}$	0,10351	1,8796	$1,32 \cdot 10^{-2}$	$5,97 \cdot 10^{-3}$
$5 \cdot 10^{-3}$	0,09800	1,8180	$1,52 \cdot 10^{-2}$	$4,75 \cdot 10^{-3}$
$7 \cdot 10^{-3}$	0,09649	1,7918	$1,62 \cdot 10^{-2}$	$3,01 \cdot 10^{-3}$
$1 \cdot 10^{-2}$	0,09588	1,7813	$1,65 \cdot 10^{-2}$	$2,62 \cdot 10^{-3}$
$2 \cdot 10^{-2}$	0,10192	1,8856	$1,30 \cdot 10^{-2}$	$6,15 \cdot 10^{-3}$
$5 \cdot 10^{-2}$	0,10414	1,9240	$1,19 \cdot 10^{-2}$	$7,25 \cdot 10^{-3}$

Tabelle VIIIb.

Rinderserum (Endkonz. 1,61 %) + 0,05 n-HCl + $NaNO_3$.

A. Wasserstoffionenbestimmung.

$NaNO_3$-Konzentration n	π (Volt)	P_H	C_H	Gebundene H-Ionen
0	0,37930	1,6398	$2,29 \cdot 10^{-2}$	$2,41 \cdot 10^{-2}$
$2 \cdot 10^{-3}$	0,37610	1,5903	$2,57 \cdot 10^{-2}$	$2,13 \cdot 10^{-2}$
$5 \cdot 10^{-3}$	0,38073	1,6693	$2,14 \cdot 10^{-2}$	$2,56 \cdot 10^{-2}$
$7 \cdot 10^{-3}$	0,37983	1,6603	$2,19 \cdot 10^{-2}$	$2,51 \cdot 10^{-2}$
$1 \cdot 10^{-2}$	0,37803	1,6292	$2,35 \cdot 10^{-2}$	$2,35 \cdot 10^{-2}$
$2 \cdot 10^{-2}$	0,37806	1,6241	$2,38 \cdot 10^{-2}$	$2,32 \cdot 10^{-2}$
$5 \cdot 10^{-2}$	0,37742	1,6130	$2,44 \cdot 10^{-2}$	$2,26 \cdot 10^{-2}$

B. Chlorionenbestimmung.

$NaNO_3$-Konzentration n	π (Volt)	P_{Cl}	C_{Cl}	Gebundene Cl-Ionen
0	0,07928	1,4947	$3,20 \cdot 10^{-2}$	$1,50 \cdot 10^{-2}$
$2 \cdot 10^{-3}$	0,07596	1,4373	$3,65 \cdot 10^{-2}$	$1,05 \cdot 10^{-2}$
$5 \cdot 10^{-3}$	0,07669	1,4497	$3,55 \cdot 10^{-2}$	$1,15 \cdot 10^{-2}$
$7 \cdot 10^{-3}$	0,07317	1,3886	$4,08 \cdot 10^{-2}$	$6,24 \cdot 10^{-3}$
$1 \cdot 10^{-2}$	0,07405	1,4043	$3,94 \cdot 10^{-2}$	$7,58 \cdot 10^{-3}$
$2 \cdot 10^{-2}$	0,07405	1,4043	$3,94 \cdot 10^{-2}$	$7,58 \cdot 10^{-3}$
$5 \cdot 10^{-2}$	0,07415	1,4060	$3,93 \cdot 10^{-2}$	$7,73 \cdot 10^{-3}$

Tabelle IX.

1. Rinderserum (Endkonz. 1,14 %) + 0,005 n-HCl + NaBr.

NaBr-Konzentration n	π (Volt)	P_H	C_H	Gebundene H-Ionen
$7,50 \cdot 10^{-4}$	0,48317	3,4570	$3,49 \cdot 10^{-4}$	$4,52 \cdot 10^{-3}$
$1,50 \cdot 10^{-3}$	0,48244	3,4444	$3,59 \cdot 10^{-4}$	$4,51 \cdot 10^{-3}$
$3,75 \cdot 10^{-3}$	0,48202	3,4370	$3,66 \cdot 10^{-4}$	$4,50 \cdot 10^{-3}$
$5,25 \cdot 10^{-3}$	0,49035	3,5447	$2,85 \cdot 10^{-4}$	$4,58 \cdot 10^{-3}$
$7,50 \cdot 10^{-3}$	0,49177	3,5690	$2,70 \cdot 10^{-4}$	$4,60 \cdot 10^{-3}$
$1,50 \cdot 10^{-2}$	0,49480	3,6442	$2,27 \cdot 10^{-4}$	$4,64 \cdot 10^{-3}$
$3,75 \cdot 10^{-2}$	0,49675	3,6797	$2,09 \cdot 10^{-4}$	$4,66 \cdot 11^{-3}$

2. Rinderserum (Endkonz. 1,14%) + 0,02 n-HCl + NaBr.

NaBr-Konzentration n	π (Volt)	P_H	C_H	Gebundene H-Ionen
$7{,}50 \cdot 10^{-4}$	0,41816	2,3303	$4{,}67 \cdot 10^{-3}$	$1{,}45 \cdot 10^{-3}$
$1{,}50 \cdot 10^{-3}$	0,41856	2,3372	$4{,}60 \cdot 10^{-3}$	$1{,}46 \cdot 10^{-3}$
$3{,}75 \cdot 10^{-3}$	0,41790	2,3056	$4{,}94 \cdot 10^{-3}$	$1{,}42 \cdot 10^{-3}$
$5{,}25 \cdot 10^{-3}$	0,41655	2,2708	$5{,}36 \cdot 10^{-3}$	$1{,}38 \cdot 10^{-3}$
$7{,}50 \cdot 10^{-3}$	0,41746	2,2944	$5{,}08 \cdot 10^{-3}$	$1{,}41 \cdot 10^{-3}$
$1{,}50 \cdot 10^{-2}$	0,41723	2,2983	$5{,}03 \cdot 10^{-3}$	$1{,}41 \cdot 10^{-3}$
$3{,}75 \cdot 10^{-2}$	0,41908	2,3063	$4{,}93 \cdot 10^{-3}$	$1{,}42 \cdot 10^{-3}$

3. Rinderserum (Endkonz. 1,14%) + 0,05 n-HCl + NaBr.

NaBr-Konzentration n	π (Volt)	P_H	C_H	Gebundene H-Ionen
$7{,}50 \cdot 10^{-4}$	0,36916	1,4559	$3{,}50 \cdot 10^{-2}$	$1{,}20 \cdot 10^{-2}$
$1{,}50 \cdot 10^{-3}$	0,36890	1,4664	$3{,}42 \cdot 10^{-2}$	$1{,}28 \cdot 10^{-2}$
$3{,}75 \cdot 10^{-3}$	0,36984	1,4724	$3{,}37 \cdot 10^{-2}$	$1{,}33 \cdot 10^{-2}$
$5{,}25 \cdot 10^{-3}$	0,36963	1,4685	$3{,}40 \cdot 10^{-2}$	$1{,}30 \cdot 10^{-2}$
$7{,}50 \cdot 10^{-3}$	0,37038	1,4868	$3{,}26 \cdot 10^{-2}$	$1{,}44 \cdot 10^{-2}$
$1{,}50 \cdot 10^{-2}$	0,37142	1,5094	$3{,}09 \cdot 10^{-2}$	$1{,}61 \cdot 10^{-2}$
$3{,}75 \cdot 10^{-2}$	0,37044	1,4878	$3{,}25 \cdot 10^{-2}$	$1{,}45 \cdot 10^{-2}$

Bei Bewertung dieser Tabellen ist zunächst in Betracht zu ziehen, daß die Genauigkeit der elektrometrischen Messung im besten Falle 2 Millivolt nicht überschreitet und daß uns daher in erster Linie die gefundenen elektromotorischen Kräfte als Maßstab für die daraus berechneten Zahlen dienen müssen.

Wir sehen aus diesen Zahlen zunächst, daß die elektromotorischen Kräfte der Wasserstoffionenelektrode in niederer Säurekonzentration bei steigendem Zusatz von Natriumnitrat bzw. Natriumbromid zunehmen, mit anderen Worten die Mengen der freien Wasserstoffionen abnehmen. Wenn wir aber bedenken, daß bei einer Konzentration von 0,005 n-HCl der Wasserstoff der Säure nahezu vollständig gebunden ist, so ist klar, daß die Bindungszunahme wohl nur äußerst minimal ist und daß sie überhaupt nur aus dem Grunde noch nachgewiesen werden kann, weil in solchen niedrigen Konzentrationen schon eine sehr geringfügige Änderung der Ionenkonzentration große Änderungen in den elektromotorischen Kräften nach sich zieht. Es werden bei Gegenwart einer 0,05 n-$NaNO_3$-Konzentration nur um $1{,}2 \cdot 10^{-4}$ und bei Gegenwart einer 0,037 n-NaBr-Konzentration nur um

$1{,}4 \cdot 10^{-4}$ mehr Wasserstoffionen als bei alleinigem Zusatz der 0,005 n-HCl gebunden.

In allen verwendeten höheren Säurekonzentrationen bewirkt der Zusatz von Natriumnitrat bzw. Natriumbromid keine nachweisbare Änderung in der Wasserstoffionenbindung; die erhaltenen Werte schwanken innerhalb der Fehlergrenzen unregelmäßig um einen mittleren Wert. Die Wasserstoffionenbindung erfährt hier also durch Salzzusatz keine merkliche Änderung.

Was die Chlorionenbindung anlangt, so ergibt sich aus den Versuchen, daß auch hier durch Salzzusatz keine nachweisbare Änderung bewirkt wird; die Schwankungen der elektromotorischen Kräfte in den einzelnen Messungen sind hier namentlich in den höheren Säurekonzentrationen etwas bedeutender als bei der Wasserstoffionenmessung, was aber wahrscheinlich in Zusammenhang mit der zeitlichen Änderung der Chlorionenbindung steht, die wir zur Zeit, da diese Versuche ausgeführt wurden, noch nicht genügend berücksichtigt hatten und daher die Herstellung der Versuchslösungen sowie die Ausführung der Versuche nicht immer den obenerwähnten Vorsichtsmaßregeln entsprach.

Als Resultat dieser Versuchsserien können wir demnach den Schluß ziehen, daß der Zusatz von Neutralsalzen von keinem wesentlichen Einfluß auf die Wasserstoff- bzw. Chlorionenbindung ist. Die auffälligen Wirkungen, die der Neutralsalzzusatz auf das physikalische Verhalten des Säureeiweißes hat, kann daher wohl kaum mit einer Einwirkung auf H- bzw. Cl-Ionenbindung in Zusammenhang gebracht werden; es besteht daher die weitere Möglichkeit, daß eine Bindung des Neutralsalzes selbst bzw. seiner Ionen an das Eiweißsalz stattfindet. Die angewendeten Salze erweisen sich für eine Entscheidung dieser Frage als unbrauchbar, da uns eine geeignete Bestimmungsmethode ihrer Ionen neben Cl- und H-Ionen bis jetzt fehlt. Wir führten daher Versuche mit einem Chlorid (Kaliumchlorid) aus, weil wir in diesem Falle wenigstens in der Lage sind, eine Bestimmung des Anions durchzuführen. Wir bestimmten deshalb zunächst die Chlorionenbindung bei bloßem Vorhandensein von 0,01 n-HCl und hierauf die Chlorionenbindung bei Gegenwart derselben Säurekonzentration und Zusatz einer bestimmten Kon-

zentration von Kaliumchlorid, selbstverständlich unter Berücksichtigung der Dissoziationszurückdrängung. Derselbe Versuch wurde bei einer Salzsäurekonzentration von 0,02 n durchgeführt. Beide Versuchsreihen sind in der nachfolgenden Tabelle zusammengestellt (Tabelle X).

Tabelle X.
Rinderserum (Endkonz. 1,14 %) + Salzsäure + KCl
Chlorionenbestimmung.

Konzentration von HCl + KCl	Cl-Ionen-konzentration (berechnet)	π (Volt)	P_{Cl}	C_{Cl}	Gebundene Cl-Ionen
$1\cdot10^{-2}$ n-HCl + 0	$9{,}66\cdot10^{-3}$	0,11701	2,1525	$7{,}04\cdot10^{-3}$	$2{,}62\cdot10^{-3}$
$1\cdot10^{-2}$ n-HCl + $5\cdot10^{-3}$ n-KCl	$1{,}42\cdot10^{-2}$	0,104309	1,9203	$1{,}20\cdot10^{-2}$	$2{,}22\cdot10^{-3}$
$1\cdot10^{-2}$ n-HCl + $1\cdot10^{-2}$ n-KCl	$1{,}87\cdot10^{-2}$	0,09673	1,7920	$1{,}61\cdot10^{-2}$	$2{,}52\cdot10^{-3}$
$2\cdot10^{-2}$ n-HCl + 0	$1{,}92\cdot10^{-2}$	0,10018	1,8492	$1{,}42\cdot10^{-2}$	$5{,}01\cdot10^{-3}$
$2\cdot10^{-2}$ n-HCl + $5\cdot10^{-3}$ n-KCl	$2{,}36\cdot10^{-2}$	0,093566	1,7353	$1{,}84\cdot10^{-2}$	$5{,}23\cdot10^{-3}$
$2\cdot10^{-2}$ n-HCl + $1\cdot10^{-2}$ n-KCl	$2{,}80\cdot10^{-2}$	0,08884	1,6540	$2{,}22\cdot10^{-2}$	$5{,}84\cdot10^{-3}$

Diese zwei Versuchsreihen zeigen, daß bei Zusatz von Kaliumchlorid zu Säureeiweiß keine oder zumindest keine nennenswerten Mengen von Chlorionen des Kaliumchlorids in das Säureeiweiß eintreten, sondern daß die Menge der an das Eiweiß gebundenen Chlorionen bei konstantem Säurezusatz auch bei Zusatz eines Chlorides so gut wie unverändert bleibt. Es ist demnach die Annahme gerechtfertigt, daß auch bei den anderen Neutralsalzen eine Bindung des Anions an das Eiweiß nicht stattfindet.

Diese Betrachtungen führen uns zu einer anderen Frage, nämlich zu dem Problem der Salzeiweißverbindungen. Bugarzsky und Liebermann haben schon vor Jahren untersucht, ob eine Bindung des Chlors des NaCl an das Eiweiß stattfindet, und glaubten diese Frage auf Grund ihrer Versuche verneinen zu müssen. Gegen ihre Versuche ist aber einzuwenden, daß viel zu hohe Salzkonzentrationen, nämlich 0,05 n-NaCl, zur Verwendung kommen. Ist nämlich die Salz-

bindung von seiten des Eiweißes nur sehr gering, so gibt sich dies in so hohen Konzentrationen nur durch sehr geringe Änderungen der elektromotorischen Kraft der Chlorionenelektrode kund, die innerhalb der Fehlergrenzen der immerhin noch unvollkommenen Methode dieser Autoren liegen können, wie dies eine einfache Überlegung lehrt. Um daher eine sichere Entscheidung in dieser Frage zu treffen, muß man mit niedrigeren Konzentrationen arbeiten. Wir stellten eine Versuchsreihe mit ca. 0,001, 0,004 und 0,01 n-Kaliumchlorid und Eiweiß an, wobei in der folgenden Weise vorgegangen wurde: Von der doppeltkonzentrierten Salzlösung wurden genau 25 ccm abgemessen und in einem 50-ccm-Meßkolben eingefüllt, der dann mit Wasser bzw. der gewünschten Eiweißlösung vollständig gefüllt wurde; damit wurde also erreicht, daß in beiden Fällen genau die gleiche Salzkonzentration vorhanden war. Hierauf wurde die Chlorionenkonzentration sowohl der reinen, wie der mit Eiweiß versetzten Kaliumchloridlösung bestimmt. Eine Zusammenstellung dieser Versuche findet sich in Tabelle XI. Zur Verwendung gelangten sorgfältig dialysiertes Rinderserum, Albumin und Gelatine.

Tabelle XI.
Kaliumchlorid + Eiweiß.
Chlorionenbestimmung.

Versuchslösung	π (Volt)	P_{Cl}	C_{Cl}	Cl (geb.)
0,001 n-KCl + 0	0,15972	2,8934	$1,28 \cdot 10^{-3}$	—
0,001 n-KCl + Rinderserum (1,14%)	0,16199	2,9342	$1,16 \cdot 10^{-3}$	$1,2 \cdot 10^{-4}$
0,004 n-KCl + 0	0,13481	2,4285	$3,72 \cdot 10^{-3}$	—
0,004 n-KCl + Rinderserum (1,14%)	0,13736	2,4704	$3,39 \cdot 10^{-3}$	$3,43 \cdot 10^{-4}$
0,01 n-KCl + 0	0,10397	1,9244	$1,19 \cdot 10^{-2}$	—
0,01 n-KCl + Albumin (1,09%) . .	0,10639	1,9686	$1,07 \cdot 10^{-2}$	$1,20 \cdot 10^{-3}$
0,01 n-KCl + Gelatine (1%) . . .	0,10865	2,0018	$1,00 \cdot 10^{-2}$	$1,94 \cdot 10^{-3}$

Aus diesen Versuchen geht übereinstimmend hervor, daß der Chlorionengehalt einer Kaliumchloridlösung bei Anwesenheit von Eiweiß eine Verminderung erfährt, die zwar gering ist, trotzdem aber mit Sicherheit nachgewiesen werden kann. Wir können also sagen, daß das neutrale Eiweiß tatsächlich imstande ist, geringe Mengen von Neutralsalz zu binden. Der Vergleich der Versuche mit verschiedener Konzentration

von Kaliumchlorid lehrt uns, daß ein und dieselbe Eiweißmenge in verschiedenen Salzkonzentrationen verschiedene Mengen von Salz bindet, und zwar nimmt die gebundene Menge mit wachsendem Salzgehalt innerhalb der untersuchten Konzentrationsbreite zu. Diese Zunahme dürfte nicht einfach proportional der Konzentration, sondern abnehmend erfolgen. So bindet das Rinderserum in einer ca. 0,001 n-KCl-Lösung 0,00012 n, in einer ca. 0,004 n-KCl-Lösung 0,00034 n-Cl. Ein ziemlich starkes Salzbindungsvermögen, das das des Serumalbumins übertrifft, scheint die Gelatine zu besitzen, womit auch die Beobachtung von Bayliss[1]) in Zusammenhang steht, daß sich das Salz nie vollständig aus Gelatine entfernen läßt.

Zum Schlusse versuchten wir die Wasserstoffionenkonzentration von reinem Desaminoglutin und Peptonglutinlösungen zu bestimmen. Da die Leitfähigkeit dieser reiner Lösungen wegen der Abwesenheit von Salzen nur sehr gering ist, haben wir in einigen Versuchen Neutralsalze hinzugesetzt. Immerhin hat sich die Leitfähigkeit der Lösungen, zufolge ihres Gehaltes an freien Wasserstoffionen als genügend groß erwiesen, um die elektromotorische Messung zu gestatten. In folgender Tabelle sind die am Desaminoglutin und Peptonglutin erhaltenen Werte zusammengestellt, und zwar wurde vom Peptonglutin ein Präparat verwendet, das durch 1stündigen Abbau und ein solches, das durch 10stündigen Abbau von salzfreier Gelatine im Autoklaven bei einem Drucke von 2 Atmosphären erhalten worden war.

Tabelle XII.

Untersuchungsflüssigkeit	π (Volt)	P_H	C_H
Desaminoglutin 0,15 %	0,66240	6,5024	$3,14 \cdot 10^{-7}$
do. + 0,005 n-$Ba(NO_3)_2$ . .	0,56574	4,8446	$1,43 \cdot 10^{-5}$
do. + 0,005 n-NaBr . . .	0,56740	4,8730	$1,34 \cdot 10^{-5}$
Peptonglutin 1 % (1 stünd. abgebaut)	0,58384	5,1544	$7,01 \cdot 10^{-6}$
do. + 0,005 n-$NaNO_3$ . .	0,56600	4,8491	$1,42 \cdot 10^{-5}$
do. + 0,005 n-NaBr . . .	0,56580	4,8457	$1,43 \cdot 10^{-5}$
do. + 0,005 n-$Ba(NO_3)_2$ . .	0,54624	4,5101	$3,09 \cdot 10^{-5}$
Peptonglutin 10 stünd. abgebaut	0,56880	4,8971	$1,27 \cdot 10^{-5}$
do. + 0,005 n-$NaNO_3$ . .	0,57090	4,9331	$1,17 \cdot 10^{-5}$
do. + 0,005 n-$Ba(NO_3)_2$ . .	0,57410	4,9880	$1,03 \cdot 10^{-5}$

[1]) Biochem. Journ. 1, 175, 1906.

Zu diesen Zahlen wäre zunächst zu bemerken, daß auch die Messungen an den ganz reinen zusatzfreien Lösungen trotz des ziemlich bedeutenden Widerstandes derselben ganz genau reproduzierbar sind, wenn auch die Ausführung der Messung sich infolge der geringen Ausschläge im Capillarelektrometer etwas schwierig gestaltet. Weiter sehen wir, daß der Salzzusatz nicht ohne Einfluß auf die H-Ionenkonzentration ist, indem dieselbe durch Salzzusatz eine nicht unbeträchtliche Steigerung erfährt. Bei 2stündig abgebautem Peptonglutin wird die H-Ionenkonzentration durch Zusatz von 0,005 n-$Ba(NO_3)_2$ stärker erhöht als durch Zusatz von 0,005 n-$NaNO_3$ oder 0,005 n-NaBr, welch letztere die H-Ionenkonzentration in gleichem Ausmaße erhöhen. Beim Desaminoglutin sowie beim 10stündig abgebauten Peptonglutin ist ein derartiger Unterschied zwischen dem Zusatz von $Ba(NO_3)_2$ und dem Zusatz anderer Salze nicht zu konstatieren, sondern alle in Anwendung gelangten Salze erhöhen die H-Ionenkonzentration in ungefähr gleichem Grade.

Diskussion der Ergebnisse.

Die Versuche ergaben also, daß mit zunehmender Säurekonzentration von Eiweiß zunächst wachsende Mengen von HCl gebunden werden; diese Bindung nimmt aber allmählich ab, bis sie bei einer gewissen Konzentration der zugesetzten Säure ihr Maximum erreicht hat und nun trotz weiteren Säurezusatzes im wesentlichen konstant bleibt. Die Bindung der Säure ist aber auch bis zu diesem Punkte niemals eine vollständige; immer bleibt auch bei ganz niederen Säurekonzentrationen in den untersuchten Eiweißlösungen freie Säure nachweisbar. Dieses Verhalten führt zu der Frage nach der hydrolytischen Dissoziation des entstandenen Eiweißsalzes. Um diese Frage zu beantworten, schlugen wir den folgenden Weg ein. In einer mit Salzsäure nahezu gesättigten Eiweißlösung — wir wählten eine 0,02 n-Lösung, da wir eine höhere Konzentration wegen der merkbaren proteolytischen Veränderung bei längerem Stehen vermeiden wollten — bestimmten wir die Wasserstoffionenkonzentration. Hierauf wurde die Lösung in einer Portion zur Hälfte und in einer weiteren Probe auf das 4fache mit Wasser verdünnt, dann wurde in diesen Lösungen die Wasserstoffionenkonzentrationen gemessen. Im Falle einer hydrolytischen Disso-

ziation müßte dieselbe größer sein, als sich nach dem Maße der Verdünnung der Ausgangslösung erwarten ließe. Der Versuch ist in der folgenden Tabelle wiedergegeben.

Tabelle XIII.

Ausgangslösung 0,02 n-HCl-Rinderserum wird um das Doppelte bzw. 4fache verdünnt.

Versuchslösung	π	P_H	C_H	$H_{geb.}$	$H_{(ber.)}$ [1]	Differenz	Differenz %
Stammlösung	0,41098	2,2128	0,00613	0,01386	—	—	—
Verdünnt 1:1	0,42589	2,4713	0,00338	0,00661	0,00693	0,00032	4,4
Verdünnt 1:3	0,43880	2,6856	0,00206	0,00293	0,00346	0,00053	15,3

Dieser Versuch zeigt, daß mit zunehmender Verdünnung die Wasserstoffionenbindung eine Abnahme erfährt. Diese beträgt bei einer Verdünnung auf das 2fache ca. 4,4 %, bei Verdünnung auf das 4fache ca. 15,3 %.

Im Gegensatz zu der starken Bindung der Wasserstoffionen, die noch bis zu einer Säurekonzentration von 0,03 n-HCl zum größeren Teil fixiert erscheinen, erweist sich die Bindung der Chlorionen von allem Anfang an als sehr gering, wobei bis 0,02 n-Säurezusatz der größte Teil derselben frei bleibt. Ihre Bindung beträgt in diesen Säurekonzentrationen beim Albumin höchstens 30 % der Gesamtmenge, ist aber in den niederen Konzentrationen noch bedeutend geringer. Mit weiter steigender Säurekonzentration nimmt dann die Bindung der Cl-Ionen wieder zu, um schließlich in höheren Konzentrationen ungefähr gleich jener der Wasserstoffionen zu werden. Hiermit ist die auf so vielfach indirektem Wege nachgewiesene Ionisation des Eiweißsalzes direkt einer quantitativen Darstellung zugänglich gemacht. Konstruiert man sich die Differenzkurve zwischen gebundenen H-Ionen und gebundenen Cl-Ionen, so zeigt sich, daß das Maximum der Ionenbildung, dem ja das Maximum dieser Differenzkurve entspricht, bei den von uns verwendeten Lösungen zwischen 0,01 und 0,02 n-HCl-Konzentration gelegen ist. Von größtem Interesse ist es nun, daß das Maximum der Reibung

[1] Die in der Kolonne $H_{(ber.)}$ eingetragenen Werte wurden aus der Konzentration der gebundenen H-Ionen der Stammlösung unter der Voraussetzung berechnet, daß bei der Verdünnung an der H-Ionenbindung nichts geändert wird; es wurde einfach der ursprüngliche Wert durch 2 bzw. 4 dividiert. Die Differenz zwischen berechnetem und gefundenem Wert ist in der folgenden Kolonne angegeben und in der letzten Kolonne schließlich die Abnahme der H-Ionenbindung in Prozenten.

bei diesen Eiweißlösungen genau mit diesem Maximum der Ionisation koinzidiert, eine Beobachtung, die in bester Übereinstimmung mit der von Pauli vertretenen Theorie steht.

Etwas abweichend gestalten sich die Verhältnisse beim Glutin. Hier ist die Bindung der Cl-Ionen äußerst gering und wird auch bei höheren Säurekonzentrationen nicht bedeutender. Wir hätten es hier also mit einem sehr stark ionisierten Chlorid zu tun, bei dem die Ionisationszurückdrängung selbst bei höheren Säurekonzentrationen ganz unbedeutend ist. Andrerseits steht diese elektrochemische Feststellung in scheinbarem Gegensatz zu der von Pauli und Falek[1]) bestimmten Reibung des Säureglutins, die bei einer bestimmten Säurekonzentration ein Maximum erreicht, um hernach abzusinken. Dieses Absinken der Reibung muß aber hier nicht durch eine Ionisationszurückdrängung bedingt sein, wie in dem Falle von Serumalbumin; es scheinen hier möglicherweise Abbauvorgänge eine Rolle zu spielen. Von Wichtigkeit ist auch der Umstand, daß die Acidalbuminbildung mit dem Freiwerden von Chlorionen einhergeht. Bei längerem Stehen einer Albumin- bzw. Serumeiweißlösung mit höher konzentrierter Säure 0,03 bis 0,05 n kann man beobachten, daß die Chlorionenbindung mit der Zeit eine nicht unbeträchtliche Abnahme erfährt. Möglicherweise spielt dieser Umstand bei dem bekanntlich sehr säureempfindlichen Glutin in einem erhöhten Maße mit.

Von großem Interesse sind die Versuche von Salzzusatz zu Säureeiweiß. Bei niederen Säurekonzentrationen (0,005 n-HCl) findet nach Zugabe von Neutralsalz eine sehr geringe, aber mit Sicherheit zu konstatierende Mehrbindung von Wasserstoffionen an das Protein statt. Die Bindungszunahme beträgt in unserem Falle bei Zusatz von $NaNO_3$ 2,6 %, bei Zusatz von NaBr 3 %. In den höheren Säurekonzentrationen läßt sich eine derartige Bindungszunahme nicht mit Sicherheit nachweisen.

W. B. Hardy, W. Pauli und Handovsky haben seinerzeit ein Schema für eine im Sinne einer H-Ionenvermehrung erfolgenden Reaktion mit Neutralsalz aufgestellt:

$$R\begin{matrix}\diagup NH_2H.Cl \\ \diagdown COOH\end{matrix} + KCl = R\begin{matrix}\diagup NH_2H.Cl \\ \diagdown COO.K\end{matrix} + HCl.$$

---

[1]) Pauli u. Falek, diese Zeitschr. 47, 1912.

Nach diesem Schema müßte man nach Salzzusatz eine Vermehrung der freien Wasserstoffionen erwarten. Diese auf Grund von seinerzeit sehr unvollkommenen colorimetrischen Beobachtungen aufgestellte Formel muß nunmehr fallen gelassen werden. Herr Prof. Pauli neigt deshalb zu der Ansicht, daß das ganze Salz mittels Nebenvalenzen mit dem Säureeiweiß in Reaktion tritt. Eine weitere Frage betrifft die Ionisationsverhältnisse der Salz-Säureproteinverbindung. Nach den eingehenden Untersuchungen an unserem Institute bewirkte der Salzzusatz zu Säureeiweiß eine starke Abnahme der inneren Reibung, Auftreten der Fällbarkeit durch Hitze und Alkohol, Entquellung von Säureglutin, sowie eine zunehmende Instabilität der Proteinsole bis zur schließlichen Ausfällung schon bei nicht sehr hohen Säurekonzentrationen.

Es kann nach diesen Tatsachen an der Abnahme der Hydratation der in der Kombination Säureeiweiß plus Salz vorkommenden Proteinkomplexe, wie dies von Pauli angenommen wurde, nicht gezweifelt werden. Ebenso spricht der Umstand, daß das Salz-Säureeiweiß sowohl durch Zusätze (Alkohol) als auch schließlich spontan ausflockt mit Sicherheit für die Entionisierung des koagulierten Anteils, da ein Austreten von ionischen Teilchen ohne deren elektrische Neutralisierung nicht möglich ist. Unsere Versuche über die Chlorionenbindung von Säureeiweiß bei Gegenwart von Neutralsalz zeigen jedoch andererseits, daß diese innerhalb der Konzentration bis 0,05 n-Salzzusatz keine Änderung aufweist, was zunächst gegen eine weitgehende Entionisierung innerhalb dieser Versuchsbreiten spricht. Es könnte allerdings auch die Möglichkeit bestehen, daß die Entionisierung hier in der Weise stattfindet, daß an Stelle der Chlorionen der Salzsäure die Anionen des zugesetzten Salzes in das Eiweiß eintreten; daß aber auch dies hier in erheblichem Maße nicht der Fall ist, zeigt der Versuch, in dem das zugesetzte Neutralsalz gleichfalls ein Chlorid gewesen war. Prof. Pauli steht auch auf Grund anderweitiger Versuche über die Bedeutung der mehrwertigen Eiweißionen für deren Hydratation auf dem Standpunkte[1]), daß anfänglich auf Salzzusatz vor allem

[1]) W. Pauli, The Viscosity and Elektrochemistry of Protein Solutions. Trans. of the Faraday Society 1913. London. — Koll. Zeitschr. 1913.

eine stark dehydratisierte, aber noch insofern ionisierte Verbindung entsteht, als das vielwertige Eiweißion nur einen kleinen Teil seiner Ladung verliert und erst bei höherem Salzzusatz vollständig entionisiert wird. Zu dieser Frage hat der eine von uns (K. Manabe) mit dem von Pauli und Landsteiner angegebenen Überführungsapparate[1]) Versuche ausgeführt, die keine deutliche Abnahme der Wanderung im elektrischen Felde nach Salzzusatz erkennen ließen. Diese Überführungen können nach Pauli über die Quantität der von Eiweiß transportierten Elektrizitätsmengen nichts aussagen, da dieselbe Menge von Eiweiß mit verschiedenen Ladungen überführt werden kann und der Zweig des Stromes, der der Eiweißüberführung dient, nicht ohne große Schwierigkeiten einer besonderen Messung unterzogen werden kann.

Auf Grund der Beziehungen des Globulins zu Neutralsalz und späterer Erfahrungen am Albumin hat W. Pauli als erster die Annahme gemacht, daß das neutrale Eiweiß bei Anwesenheit von Salz in Form einer Salzeiweißverbindung besteht. Dieser Ansicht standen aber die schon erwähnten Versuche Bugarzskys und Liebermanns entgegen, die noch bis in die neueste Zeit als maßgebend gegen die Theorie der Salzioneneiweißverbindungen angesehen wurden (Höber, Cohnheim). Unsere Versuche entscheiden nun aber direkt im Sinne der Annahmen Paulis und der durch dieselben gegebenen Erklärung des besonderen Verhaltens des Eiweißes in niederen Salzkonzentrationen. Sie sprechen auch im Sinne der Auffassung von Pauli und Samec, daß die von ihnen beobachtete Löslichkeitssteigerung gewisser schwerlöslicher Elektrolyte nicht als Übersättigungserscheinung, sondern als Folge entstandener Salzeiweißverbindungen aufzufassen ist.

Die Erscheinung, daß Salzzusatz zu stärker sauren Eiweißkörpern (Desaminoglutin, Peptonglutin) ein geringes, aber gesetzmäßiges Freiwerden von Wasserstoffionen bedingt, ist kaum anders zu erklären als durch Entstehung schwächer ionisierter Eiweißkomplexe, wobei ein Austausch zwischen den H-Ionen und den Metallionen erfolgt. Dieser Mechanismus scheint nicht

[1]) Vgl. Pauli-Flecker, diese Zeitschr. 41, 1912. Dieser Apparat kann durch die Firma F. Köhler in Leipzig bezogen werden.

unähnlich jenem zu sein, der von H. Ley[1]) für die Bildung innerer Metallkomplexsalze von Aminosäuren angegeben wurde. So fand dieser Autor, daß z. B. eine so überaus schwache Säure wie das Glykokoll die 100000 mal stärkere Essigsäure aus ihren Salzen zu verdrängen vermag. Der Vorgang verläuft nach folgendem Schema:

$$MeX_2 + 2\,NH_2.R.COOH \rightleftarrows Me(COO.R.NH_2)_2 + 2\,HX.$$

Damit wäre auch im Einklang, daß Barium eine energischere Wirkung hat als Alkali; eine ähnliche Erfahrung in bezug auf die Dissoziationsverhältnisse von Alkali und Erdalkalieiweiß wurden von Pauli und Handovsky[2]) gemacht. Weitere Anwendungen und Konsequenzen unserer auf Veranlassung des Herrn Prof. Pauli ausgeführten Untersuchungen werden in den nächsten Arbeiten aus dem Institute zur Darstellung gelangen.

---

[1]) Ber. d. Deutsch. chem. Ges. 42, 1909.

[2]) Diese Zeitschr. 24, 1910.

Versuche zur Synthese einiger Glucoside der Terpenalkohole mit Emulsin.

Von

J. Hämäläinen.

(Aus dem chemischen Laboratorium der Universität Helsingfors.)

(Eingegangen am 2. Mai 1913).

Bei meinen Untersuchungen über synthetische β-Glucoside der Terpenalkohole[1]) fiel es mir auf, daß einige, wie z. B. α-Santenol- und Dihydrocarveolglucosid sehr empfindlich gegen Emulsin sind, während die Mehrzahl von diesem Agens verhältnismäßig schwer angegriffen wird. Dies veranlaßte mich zu versuchen, ob das Emulsin umgekehrt imstande ist, Glucoside der Terpenalkohole aufzubauen, wie es beispielsweise mit Alkylglucosiden[2]) der Fall ist.

Wegen der minimalen Löslichkeit der Terpenalkohole in Wasser führten die ersten in dieser Richtung gemachten Versuche nicht zum Ziele: die Kondensation zwischen Alkohol und Glucose kommt überhaupt nur bei einem Überschuß von Alkohol zustande.

Als ich aber eine Lösung von Terpenalkohol und Glucose in verdünntem Äthylalkohol mit Emulsin längere Zeit stehen ließ, konnte ich mich überzeugen, daß unter diesen Bedingungen neben Äthylglucosid auch Terpenalkoholglucoside entstehen.

Dieser Befund ist nun von größtem Interesse in bezug auf die Erklärung der Tatsache, daß bei mit Emulsin vorbehandelten Kaninchen die Bildung von gepaarten Glucuronsäuren nach Verabreichung von

---

[1]) J. Hämäläinen, diese Zeitschrift **49**, 398; **50**, 209, 1913.

[2]) Bourquelot und Bridel, Compt. rend. **154**, 1375, 1737 (1912); **155**, 86, 319, 437, 523 (1912).

paarungsfähigen Substanzen gesteigert ist. Hildebrandt[1]), Beitzke und Neuberg[2]), denen auch ich mich mit Sjöström[3]) anschloß, haben diesen Umstand dadurch erklärt, daß das Emulsin im Organismus ein Antiemulsin erzeugt, dem eine synthesebefördernde Wirkung zukommt. An der Hand der jetzt zu besprechenden Versuche braucht man meines Erachtens jedoch nicht die Existenz eines Antiemulsins annehmen, da das Emulsin selbst synthetisierend wirkt. Übrigens haben Beitzke und Neuberg[4]) auf Grund der bekannten Versuche von Rosenthaler bereits die gleiche Meinung geäußert.

Die gesteigerte Bildung von gepaarten Glucuronsäuren beim Emulsinkaninchen stelle ich mir deshalb folgendermaßen vor: Bei Verfütterung z. B. von Borneol an Kaninchen wird, wie an anderer Stelle erörtert wird, zuerst das Borneolglucosid erzeugt, welches dann zu Borneolglucuronsäure oxydiert wird. Wenn nun Emulsin zugleich anwesend ist, wird das Borneol in größerem Umfang mit Glucose kondensiert als sonst, d. h. die Menge der Borneolglucuronsäure im Harn ist auch gesteigert.

l-Fenchyl-d-glucosid.

30 g l-Fenchylalkohol und 3 g Glucose wurden in wässerigem Alkohol gelöst und mit 2,5 g Emulsin ca. 3 Monate bei Zimmertemperatur aufbewahrt. Dann wurde die trübe Lösung bei gelinder Wärme eingeengt, filtriert und so lange mit Wasserdampf destilliert, bis kein Fenchylalkohol mehr überging. Beim Einengen der Lösung auf dem Wasserbade schieden sich glänzende, bitter schmeckende Nadeln aus. Durch Umkrystallisicren aus siedendem verdünnten Alkohol wurde die Substanz völlig rein erhalten. Ausbeute 0,12 g. Die Substanz zeigte den dem l-Fenchyl-d-glucosid zukommenden Schmelzpunkt 124 bis 127° (korr.), reduzierte Fehlingsche Lösung erst nach dem Kochen mit verdünnter Schwefelsäure, wobei der charakteristische Geruch des Fenchylalkohols wahrnehmbar

---

[1]) H. Hildebrandt, Virchows Archiv **181**, 38; **184**, 325, 1906.

[2]) Beitzke und Neuberg, ebenda **183**, 171, 1906.

[3]) Hämäläinen und Sjöström, Skand. Arch. f. Physiol. **24**, 113, 1910.

[4]) Beitzke und Neuberg, Zeitschr. f. Immunitätsforschung **5**, 645, 1909.

wurde. Mit Emulsin in wässeriger Lösung bei 37° aufbewahrt, trat Hydrolyse ein.

r-Isoborneol-d-glucosid.

50 g r-Isoborneol und 3 g Glucose wurden in wässeriger Alkohollösung mit 3 g Emulsin bei Zimmertemperatur aufbewahrt. Nach ca. 3 Monaten wurde die Lösung auf dem Wasserbade eingeengt, filtriert und durch Wasserdampf von freiem Borneol befreit. Beim Verdunsten der Lösung schied sich eine farblose, glänzende, bitter schmeckende Krystallmasse aus, die aus siedendem Wasser umkrystallisiert wurde. Ausbeute an reiner Substanz 0,136 g. Schmelzpunkt 133 bis 134° (korr.); mit r-Isoborneolglucosid zu gleichen Teilen gemischt, trat keine Schmelzpunktserniedrigung ein. Bei 37° mit Emulsin aufbewahrt, wurde es gespalten. Erst nach dem Kochen mit verdünnten Säuren reduzierte es Fehlingsche Lösung. Es lag also r-Isoborneolglucosid vor.

l-Borneol-d-glucosid.

Eine Lösung von 30 g l-Borneol und 2 g Glucose in wässerigem Alkohol wurde mit 3 g Emulsin versetzt. Nach ca. 3 Monaten wurde die Lösung auf das Glucosid in obiger Weise verarbeitet. Ausbeute an reiner Substanz 0,11 g. Es zeigte den dem l-Borneolglucosid zukommenden Schmelzpunkt 132 bis 133,5° (korr.), reduzierte Fehlingsche Lösung erst nach dem Kochen mit Schwefelsäure und wurde durch Emulsin zum Teil gespalten.

Die ersten Mutterlaugen dieser drei Glucoside hinterließen einen schwach gelblichen Sirup, der mit absolutem Alkohol extrahiert wurde. Nach dem Verdunsten der Lösung blieb eine zähe Masse zurück, die Fehlingsche Lösung schwach reduzierte. Nach dem Kochen mit Säuren wurde der Geruch des Äthylalkohols wahrnehmbar. Wahrscheinlich handelte es sich um das Äthylglucosid, welches zugleich entstanden war.

Zur Kenntnis der Reduktionsfermente.

IV. Mitteilung.

Pflanzliche Perhydridase.

Von

A. Bach.

(Aus dem Privatlaboratorium des Verfassers.)

(Eingegangen am 5. Juni 1913.)

Nachdem ich[1]) festgestellt hatte, daß die Reduktion von Farbstoffen und Nitraten im Tierkörper durch ein System Perhydridase + wasserspaltende Substanz bzw. Aldehyd + Wasser bewirkt wird, habe ich versucht, das reduzierende Agens der Pflanzengewebe näher kennen zu lernen. Theoretische Erwägungen, sowie bereits vorhandene, aber bisher unzutreffend interpretierte Beobachtungen ließen vermuten, daß auch hier ein ähnliches System vorliegt.

Abelous und Aloy[2]) fanden, daß Kartoffelsaft, der für sich allein auf Salicylaldehyd ohne Einwirkung ist, letzteren zu Salicylsäure in Gegenwart von Nitraten oder Chloraten oxydiert. Sie schreiben diese Wirkung einer „oxydo-reduzierenden Diastase" zu und nehmen an, daß die Oxydation des Salicylaldehyds auf Kosten einer im Saft enthaltenen, sauerstoffreichen Verbindung stattfindet. Daß aber für das Zustandekommen der Oxydation noch die Mitwirkung von Nitraten oder Chloraten erforderlich ist, erklären sie durch die Annahme, daß die im Kartoffelsaft gleichzeitig anwesende Oxydase (Laccase) auf die Reaktion einen hemmenden Einfluß ausübe, indem sie die erwähnte sauerstoffreiche Verbindung „stabilisiere". Nitrate oder Chlorate sollen hier die stabilisierte Verbindung ersetzen.

---

[1]) Diese Zeitschr. **31**, 443; **33**, 282, 1911; 38, 154, 1912.

[2]) Compt. rend. **138**, 382, 1904.

In einer weiteren Arbeit stellte Abelous[1]) fest, daß die Oxydation des Salicylaldehyds auch in Abwesenheit von Nitraten oder Chloraten vor sich geht, wenn man die Wirkung der Oxydase durch Sauerstoffausschluß aufhebt, wodurch das oxydo-reduzierende Ferment befähigt werde, die hypothetische Sauerstoffverbindung anzugreifen.

Im Lichte der von mir gemachten Erfahrungen konnte aus diesen Beobachtungen geschlossen werden, daß Kartoffelsaft eine Perhydridase enthält, die die Spaltung des Wassers durch Aldehyde beschleunigt und Reduktionsprozesse herbeiführt. Versuche ergaben, daß dies tatsächlich der Fall ist. Es zeigte sich, daß die Reduktion der Nitrate durch die Wirkung des Systems Perhydridase + Aldehyd + Wasser im Kartoffelsaft so schnell vor sich geht, daß die Reaktion sich gut zum Vorlesungsversuch eignet.

1 g aus geschälten Kartoffeln frisch dargestellter Brei wird im Reagensglas mit 10 ccm auf 60° vorgewärmter 4%iger Natriumnitratlösung und 3 Tropfen 10%iger Acetaldehydlösung versetzt und das Gemisch noch 2 Minuten auf die gleiche Temperatur erwärmt. Mit dem Ilosvay-Lungeschen Reagens erhält man dann eine schöne Reaktion auf Nitrite. Eine gleichzeitig angestellte Kontrollprobe ohne Aldehydzusatz weist keine Spur von Nitriten auf.

Die pflanzliche Perhydridase ist wasserlöslich. Vollkommen klare, sehr aktive Lösungen lassen sich folgendermaßen darstellen:

100 g aus geschälten Kartoffeln frisch dargestellter Brei werden mit 250 ccm 2%iger Natriumfluoridlösung[2]) verrieben und das Gemisch an der Wasserstrahlpumpe filtriert. Das anfangs farblose Filtrat verfärbt sich ziemlich schnell infolge der Einwirkung der Oxydasen des Extraktes auf die darin enthaltene Chromogene. Sämtliche, im nachstehenden beschriebene Versuche wurden mit derartigen, der Wirkung der Bakterien unzugänglichen Lösungen ausgeführt.

Zunächst wurde die Wirksamkeit der pflanzlichen Perhydridase an der Reduktion der Nitrate zu Nitriten quantitativ untersucht. Die Versuche wurden nach der in der II. Mitteilung beschriebenen Methode ausgeführt. Als Beispiel sollen aus mehreren, gut übereinstimmenden Versuchsreihen folgende mitgeteilt werden.

---

[1]) Compt. rend. 138, 1619, 1904.

[2]) Das Natriumfluorid (Kahlbaum) reagierte schwach alkalisch.

80 ccm aktiver oder durch Erhitzen zum Kochen inaktivierter Extrakt, 4 g Natriumnitrat, mit oder ohne Zusatz von 1 g Acetaldehyd in 100 ccm. Temperatur 50°.

Zeit in Stunden	N_2O_3 in 100 ccm		
	I. aktiv. Extrakt + Aldehyd mg	II. inaktiv. Extrakt + Aldehyd mg	III. aktiv. Extrakt ohne Aldehydzusatz mg
0	0	0	0
1	7,51	0	0,31
2	12,25	0	0,36
3	12,07	0	0,39
5	12,18	Spur	0,43
24	12,06	„	0,41
48	12,12	„	0,49

Aus diesen Versuchen geht hervor, daß in filtrierten Kartoffelextrakten das für das Zustandekommen der Wirkung der Perhydridase erforderliche, durch Aldehyde ersetzbare Koferment nur in minimaler Menge vorhanden ist. Daß aber beim Aufbewahren der Extrakte unter antiseptischen Bedingungen und unter Luftausschluß die Menge des Kofermentes stets zunimmt, wurde gelegentlich der Versuche über die Haltbarkeit der Perhydridase festgestellt.

Bei diesen Versuchen wurde der frisch dargestellte Extrakt in kleine, mit Glasstöpsel gut verschließbare Fläschchen aufgefüllt und zu völligem Luftausschluß in ein Wasserbad bei Zimmertemperatur eingesenkt. Zu verschiedenen Zeiten wurde je 1 Fläschchen herausgenommen und das Reduktionsvermögen des Extraktes bei An- und Abwesenheit von Acetaldehyd nach 1 Stunde langer Einwirkung auf Natriumnitrat bestimmt.

Dauer des Aufbewahrens in Tagen	N_2O_3 in 100 ccm	
	mit Aldehydzusatz mg	ohne Aldehydzusatz mg
0	7,01	0,23
1	7,05	0,31
4	6,92	0,45
10	6,98	2,41
15	6,71	4,62
20	6,80	5,90
25	6,51	6,70
30	6,60	6,90

Demnach wächst die Nitritmenge, die durch die Perhydridase auch ohne Mitwirkung des Aldehyds erzeugt werden kann,

mit dem Aufbewahren des Extraktes, was nur dahin gedeutet werden kann, daß bei der Autolyse der Bestandteile des letzteren Substanzen entstehen, die als Koferment der Perhydridase fungieren. Obige Versuche zeigen zugleich, daß die pflanzliche Perhydridase unter antiseptischen Bedingungen und unter Luftausschluß ziemlich beständig ist. Bei Luftzutritt geht sie schon nach kurzer Zeit zugrunde, wobei im Extrakt spontan Salpetrigsäure auf oxydativem Wege entsteht (siehe nachstehende Mitteilung).

Alle Bemühungen, aktive Perhydridase aus ihren Lösungen in festem Zustande darzustellen, sind bisher erfolglos geblieben. In bezug auf Wirksamkeit und Reaktionsverlauf steht die pflanzliche Perhydridase der tierischen sehr nahe. Sie unterscheidet sich aber von letzterer in der Hinsicht, daß sie im Verein mit dem tierischen Koferment nicht die mindeste Reduktion bewirkt. Wie in der III. Mitteilung angegeben wurde, entzieht kochendes Wasser tierischen Geweben eine oder mehrere Substanzen, die für sich allein keine reduzierende Wirkung ausüben, aber im Verein mit der für sich allein ebenfalls unwirksamen Perhydridase kräftige reduzierende Systeme darstellen. Weitere Versuche ergaben, daß das Koferment reichlich in käuflichem Pepton (Merck) und in ausgekochten Zyminextrakten enthalten ist. Auf diese Präparate, sowie auf gekochte Extrakte aus tierischen Geweben ist nun die pflanzliche Perhydridase ohne jede Einwirkung.

Zur Aufklärung dieses Unterschiedes stellte ich zahlreiche Versuche an, die noch nicht zum erstrebten Ziel führten, und die hier kurz erwähnt werden sollen.

Da nach den bisherigen Erfahrungen die tierische Perhydridase nur niedere Aldehyde zum Herstellen eines reduzierenden Systems verwerten kann, so lag die Annahme nahe, daß das Koferment aus Substanzen besteht, die unter dem Einflusse der die tierische Perhydridase begleitenden Beimischungen bzw. Fermente sich leicht in Aldehyde verwandeln. Das Ausbleiben der Wirkung der pflanzlichen Perhydridase auf das Koferment wäre dann auf das Fehlen der betreffenden Beimischungen bzw. Fermente zurückzuführen. Unter den Substanzen, aus denen Aldehyde verhältnismäßig leicht entstehen, kommen hier in erster Linie α-Aminosäuren in Betracht.

Letztere werden auf Kosten des Wassers durch die Vermittlung des Alloxans (Strecker) oder anderer Ketoverbindungen (W. Traube) zu den nächstniederen Aldehyden unter Abspaltung von Kohlendioxyd und Ammoniak oxydiert. Falls also die Verwertbarkeit des Kofermentes durch die tierische Perhydridase auf der genannten Umwandlung von Aminosäuren beruht, so dürften auch isolierte Aminosäuren als Koferment fungieren können. Dahingehende Versuche wurden mit frischer Kuhmilch und Glycin, Tyrosin, Alanin, Serin, Leucin und Asparaginsäure als Natriumsalze oder freie Säuren angestellt. Als reduktionsfähige Substrate wurden Methylenblau und Natriumnitrat angewendet. Sämtliche Versuche ergaben glatt negative Resultate. Daß die Perhydridase durch die Zusätze nicht in irgendeiner Weise geschädigt wurde, konnte dadurch bewiesen werden, daß auf Zusatz von Acetaldehyd die Proben normale Reduktionserscheinungen aufwiesen.

Ich stellte weiter ähnliche Versuche mit Brenztraubensäure und Oxalessigsäure an, da nach Neuberg Ketosäuren unter dem Einflusse der von ihm aufgefundenen Carboxylase in die nächstniederen Aldehyde unter Kohlendioxydabspaltung übergehen. Auch diese Versuche verliefen völlig negativ. Die Natur des Kofermentes kann also bisher noch nicht erörtert werden, und dementsprechend muß die Frage nach der Ursache des Unterschiedes in dem Verhalten der tierischen und pflanzlichen Perhydridase vorläufig dahingestellt bleiben.

Wie die tierische Perhydridase, wirkt die pflanzliche reduzierend nur durch die Vermittlung von niederen Aldehyden bzw. aldehydbildenden Substanzen. Kastle und Elvove[1]) fanden für die Reduktion der Nitrate durch nichtfiltrierte Kartoffelextrakte (Emulsionen) eine Reihe von „Acceleratoren“ (Toluol, Alkohole, Aldehyde, Aceton usw.) auf. Für die von mir dargestellten, völlig klaren Perhydridaselösungen konnte ich diesen Befund, mit Ausnahme der Aldehyde, nicht bestätigen. Nicht nur frisch destillierter Alkohol, Aceton oder Toluol, sondern auch das dem Formaldehyd so nahe stehende Methylal erwies sich als vollkommen unverwertbar. Dagegen wird Acetal sowohl durch die tierische wie durch die pflanzliche Perhydridase

[1]) Amer. Journ. of Chem. 31, 606, 1904.

mit großer Leichtigkeit ausgenutzt. Amygdalin fungiert als Koferment der Kartoffelperhydridase, nicht aber der Milchperhydridase. Der Unterschied erklärt sich dadurch, daß Kartoffelextrakte das als „Emulsin“ bekannte Fermentgemisch enthalten, durch dessen Wirkung Amygdalin in Glucose, Benzaldehyd und Blausäure gespalten wird, während das Emulsin in der Kuhmilch fehlt. Fügt man aber dem Gemisch von Milch, Nitrat und Amygdalin etwas von diesem Fermentgemisch zu, so erfolgt auch hier rasche Reduktion des Nitrates durch die Vermittlung des abgespaltenen Benzaldehyds.

Die pflanzliche Perhydridase, die Nitrate in Anwesenheit von Aldehyden rasch reduziert, ist auf Methylenblau unter gleichen Bedingungen ohne jede Einwirkung, worin sie sich von der tierischen wesentlich unterscheidet. Die Ursache dieses Unterschiedes konnte ich bisher noch nicht ermitteln.

Oxydative Bildung von Salpetrigsäure in Pflanzenextrakten.

Von

A. Bach.

(Aus dem Privatlaboratorim des Verfassers in Genf.)

(Eingegangen am 5. Juni 1913.)

Gelegentlich einiger Versuche über die Haltbarkeit der pflanzlichen Perhydridase in ihren Lösungen (s. voranstehende Mitteilung), konnte ich die interessante Beobachtung von Mazé[1]) bestätigen, daß in Pflanzenextrakten bei Luftzutritt spontan Salpetrigsäure entsteht.

Daß im Kartoffelsaft nach längerem Stehenlassen sich Nitrite bilden, wurde bereits von Schönbein beobachtet und durch die Reduktion der im Safte enthaltenen Nitrate erklärt. Mazé stellte nun fest, daß sterile, auf 105° während 5 Minuten erhitzte Pflanzenextrakte bei Luftzutritt schon nach wenigen Tagen eine deutliche Reaktion auf Salpetrigsäure geben. Bei Luftausschluß bleibt die Reaktion aus. Mazé nimmt an, daß Salpetrigsäure sich ständig in der lebenden Zelle bildet, und schreibt ihr eine wichtige Rolle im Atmungsprozesse zu, indem er die Ansicht äußert, daß „la combustion respiratoire est une oxydation des matières albuminoïdes du protoplasme accomplie par une fonction nitreuse fixée vraisembablement sur la molécule albuminoïde elle-même“.

Um Aufschlüsse über diese oxydative Bildung von Salpetrigsäure im Kartoffelextrakt zu gewinnen, stellte ich folgende Versuche an:

Je 100 ccm eines mittels 2%iger Natriumfluoridlösung in der früher angegebenen Weise dargestellten Kartoffelextraktes wurden: I. in eine geräumige, mit Natronkalkverschluß versehene Flasche gegeben und bei Zimmertemperatur (14 bis 18°) stehen gelassen; II. zum Kochen erhitzt und dann wie unter I. behandelt; und III. in kleine, mit Glasstöpsel gut verschließbare Fläschchen aufgefüllt und zwecks Luftausschluß unter Wasser bei Zimmertemperatur aufbewahrt. Zu verschiedenen

[1]) Compt. rend. **153**, 357, 1911.

Zeiten wurde der Nitritgehalt der Proben in der früher beschriebenen Weise bestimmt. Die Ergebnisse sind in folgender Tabelle zusammengestellt:

Zeit in Tagen	N_2O_3 in 100 ccm I mg	II mg	III mg
0	0	0	0
1	0	0	0
2	0,08	0	0
4	0,50	0	0
6	1,85	Spur	0
8	3,51	0,10	0
10	4,42	0,13	0
15	3,72	0,34	0
20	2,11	0,48	0
25	1,52	0,60	0
30	0,62	0,71	0

Andere Versuche ergaben ganz ähnliche Resultate. Aus diesen Versuchen geht hervor:

1. daß der ursprüngliche Extrakt vollkommen nitritfrei ist, was mit der von Molisch[1]) herrührenden Angabe übereinstimmt, wonach frische Pflanzen keine Nitrite enthalten;

2. daß die Bildung von Salpetrigsäure nicht auf die Reduktion der eventuell im Extrakt enthaltenen Nitrate zurückgeführt werden kann, da für das Zustandekommen der Reduktion die Anwesenheit von Sauerstoff keineswegs ausschlaggebend ist; der Bildung von Salpetrigsäure liegt also ein oxydativer Prozeß zugrunde;

3. daß die oxydative Bildung von Salpetrigsäure im zum Kochen erhitzten Extrakte bei weitem langsamer vor sich geht, als im normalen; und

4. daß die gebildete Salpetrigsäure allmählich zerstört wird, ein Verhalten, das auch von Mazé beobachtet worden ist.

Daß die Bildung von Salpetrigsäure auf der Oxydation der im Extrakt enthaltenen Aminoverbindungen beruht, ist ohne weiteres anzunehmen. Ob aber hier ein einfacher Oxydationsprozeß vorliegt, wie es Mazé anzunehmen scheint, ist zweifelhaft. Denn einerseits enthält der Kartoffelextrakt reichlich Oxydasen (Phenolase und Tyrosinase), die gerade auf Aminoverbindungen oxydierend wirken. Äußerlich läßt sich

[1]) Monatsh. f. Chem. 8, 237.

die Anwesenheit von Oxydasen an der raschen Schwarzfärbung des in Berührung mit Luft gewesenen, ungekochten Extraktes erkennen, während der gekochte Extrakt unter durchaus gleichen Bedingungen eine sehr schwache und der unter Luftausschluß aufbewahrte aktive Saft gar keine Färbung aufwies. Andererseits geht die Bildung von Salpetrigsäure im gekochten Saft, in dem die Oxydasen mehr oder weniger völlig zerstört worden sind, bei weitem langsamer vor sich als im normalen. Es ist daher ziemlich wahrscheinlich, daß man es hier mit einem Oxydationsprozeß zu tun hat, der von sich selbst langsam verläuft, durch Oxydasen aber beträchtlich beschleunigt werden kann. Allerdings darf ich nicht verschweigen, daß es mir bisher nicht gelungen ist, die Bildung von Salpetrigsäure in gekochtem Kartoffelextrat durch Zusatz von dem aus Kartoffelsaft erhältlichen Fermentgemisch wesentlich zu beschleunigen. An der Bildung von Salpetrigsäure im normalen Saft scheinen sich daher Faktoren zu beteiligen, die entweder beim Aufkochen des Extraktes oder beim Ausfallen der Oxydasen ausgeschaltet werden.

Durch die Annahme, daß Salpetrigsäure sich auch in der lebenden Zelle bildet, erklärt Mazé die vielfach besprochene Fähigkeit der Pflanzenobjekte, Jod aus angesäuertem Jodkalium auszuscheiden. Eine ähnliche Erklärung machte schon vor 10 Jahren Aso[1]) gegen die von Bach und Chodat[2]) behauptete Identität der guajacbläuenden Oxydase (Phenolase) und des die Jodausscheidung bewirkenden Prinzips der Pflanzen geltend. Auf die Identität beider Prinzipien konnte aus folgenden Tatsachen geschlossen werden:

1. Zwischen der Guajac- und der Jodkaliumstärke-Reaktion der frischen Pflanzenobjekte besteht eine vollkommene Parallelität in bezug auf die Lokalisatien des oxydierenden Prinzips und die Intensität der Oxydationsprozesse.

2. Aus oxydasehaltigen Pilzen läßt sich ein thermolabiles Präparat darstellen, das neben den üblichen Oxydasereaktionen auch die Fähigkeit besitzt, Jod aus angesäuertem Jodkalium auszuscheiden.

---

[1]) Beitr. bot. Zentrb. 15, 208, 1903.

[2]) Ber. 35, 2466, 1902.

Gegen diese Schlußfolgerung wendete Aso ein, daß der von ihm aus Sagittaria sagittifolia dargestellte Saft, der sowohl die Guajacreaktion wie die Jodreaktion gab, nach Aufkochen Guajac nicht mehr bläute, aber Jod aus Jodkalium ausschied. Der Saft erwies sich als nitrithaltig, während das ursprüngliche Material (Zwiebeln) selbst nach Aso nitritfrei war. Dieser Befund gab Aso zu der Annahme Veranlassung, daß die Jodreaktion der frischen Pflanzen ebenfalls durch Nitrite bewirkt sei.

Die Aso-Mazésche Annahme ist schon deswegen unhaltbar, weil Salpetrigsäure weder in frischen Pflanzen noch in frisch dargestellten Pflanzensäften nachweisbar ist, während die gleichen Objekte ziemlich rasch die Jodausscheidung aus Jodkalium bewirken. Gegen diese Annahme spricht weiter die Tatsache, daß Peroxydase die Oxydation des Jodwasserstoffs durch Peroxyde außerordentlich beschleunigt. Da das System Peroxydase + Peroxyd in seinen sämtlichen Wirkungen mit der Phenolase identisch ist, so hat man auch die Jodausscheidung aus angesäuertem Jodkalium der Wirkung der Phenolose zuzuschreiben. In endgültiger Weise wurde diese Annahme von Chodat und Bach[1]) widerlegt, indem sie aus Pilzen (Lactarius vellereus) eine Phenolase darstellten, die keine der Reaktionen auf Nitrite gab, aber Jodkalium energisch oxydierte.

Ich wiederholte neuerdings den Versuch mit dem gleichen Erfolg. Es kann also keinem Zweifel unterliegen, daß die Fähigkeit, Jod aus Jodwasserstoff zu entbinden, der gewöhnlichen Phenolase zukommt. Allerdings konnte man die Aso-Mazésche Ansicht mit den Tatsachen durch die Nebenannahme vereinbar machen, daß bei der Einwirkung von Sauerstoff auf Phenolase bzw. von Peroxyden auf Peroxydase (beide Fermente sind stets stickstoffhaltig) eine „fonction nitreuse" entstehe, die Jodkalium oxydiere. Zu dieser Nebenannahme, die schon von Chodat und Bach (l. c.) in Erwägung gezogen worden ist, liegt aber noch keine Veranlassung vor.

Die Frage, ob die Jodausscheidung aus angesäuertem Jodkalium durch die Phenolase als solche oder durch eine darin

---

[1]) Ber. 37, 36, 1904.

enthaltene spezifische „Jodidase" (Raciborski) bewirkt wird, glaube ich im Sinne der Nichtspezifität beantworten zu dürfen. Einerseits ist es bisher trotz aller Bemühungen nicht gelungen, durch physikalische und chemische Eingriffe die Phenolase und die ihr entsprechende Peroxydase in spezifisch wirkende Arten zu zerlegen, bzw. irgendeine der Funktionen dieser Fermente definitiv aufzuheben. Andererseits konnten Spezifitätserscheinungen, aus denen auf die Existenz spezifisch wirkender Phenolasen (Guajacolase, Orcinase) geschlossen wurde, auf ganz einfache Reaktionsverhältnisse zurückgeführt werden[1]).

Die Voraussetzung, daß die Phenolase bzw. die ihr entsprechende Peroxydase ein Gemisch von spezifisch wirkenden Fermenten sei, entbehrt jeder experimentalen Grundlage. Bei dem gegenwärtigen Stand unserer Kenntnisse müssen wir also annehmen, daß die Phenolase als solche (bzw. das System Peroxydase + Peroxyd) überhaupt nur Wasserstoff von bestimmtem Labilitätsgrad angreift. Ob dabei der labile Wasserstoff an ein Stickstoffatom, wie bei den Aminen, an ein Sauerstoffatom, wie bei den Phenolen, oder an ein Jodatom, wie bei dem Jodwasserstoff, gebunden ist, macht für das Zustandekommen des Oxydationsprozesses keinen Unterschied.

---

[1]) Vgl. Bach und Maryanovitsch, diese Zeitschr. 42, 417, 1912.

Neuer Beitrag zur Physiologie der Milz.

Das Eisen der Galle und des Blutes bei entmilzten Tieren.

Von

Angelo Pugliese.

(Aus dem Institut für experimentelle Physiologie der Kgl. Tierärztlichen Hochschule in Mailand.)

(Eingegangen am 6. Juni 1913.)

Als ich im Jahre 1899 als Erster die enge Beziehung zwischen Milz und Leber hinsichtlich der Verarbeitung des Blutfarbstoffs nachwies[1]), erbrachte ich damit den indirekten Beweis, daß die Milz im Eisenstoffwechsel eine Hauptrolle spielt, da der Blutfarbstoff das an Eisen reichste Material im Organismus ist.

Die Wichtigkeit meiner Ergebnisse gab zu anderen Untersuchungen über die Milz als Organ des Eisenstoffwechsels den Anlaß.

So bewies Pandolfini[2]) bei Säugetieren und Vögeln die Existenz einer besonderen unterkapsularen Zone in der Milz, wo das Eisen sich vornehmlich ablagert; Panà[3]) fand, daß die milzlosen Meerschweinchen eine wesentlich geringere Eisenmenge in der Leber aufweisen; und Gambarati[4]) konnte auf Grund von Versuchen an Fröschen das von Panà für die Leber erhaltene Ergebnis verallgemeinern, indem er feststellte, daß die Splenektomie den gesamten Eisengehalt im ganzen Organismus herabdrückt.

Doch wurde die umfassendste Untersuchung über die Milz als Organ des Eisenstoffwechsels von Großenbacher[5]) und Zimmermann[6])

---

[1]) Pugliese, Arch. f. Anat. u. Physiol. (Physiol. Abteilung) **1899**, 60. — Policlinico **6**, 1000, 1899, Arch. Ital. de Biol. **33**, 359, 1900.

[2]) Pandolfini, Journ. de Physiol. et de Pathol. génér. **1901**, 911.

[3]) Panà, Boll. delle Scienze Med. di Bologna (8) **1**, 49, 1901.

[4]) Gambarati, Arch. di Farmac. Sperim. e Scienze affini, 1. Jahrg., **1**, 1902.

[5]) Großenbacher, diese Zeitschr. **17**, 78.

[6]) Zimmermann, diese Zeitschr. **17**, 297.

auf Prof. Ashers Anregung und unter dessen Leitung ausgeführt; sie untersuchten die Ausscheidung des Eisens bei normalen und entmilzten Hunden und fanden, daß die Eisenausscheidung mit dem Kote nach Entfernung der Milz gesteigert war. Zimmermann konnte diese Steigerung der Eisenausscheidung 11 Monate nach der Milzexstirpation nachweisen, und außerdem feststellen, daß die Milz nicht nur das durch hämolytische Prozesse, sondern auch durch Zerfall vom übrigen eisenhaltigen Körpermaterial — außer dem Hämoglobin — freiwerdende Eisen verarbeitet.

Diese von den zwei Schülern Ashers an Hunden erzielten Ergebnisse erhielten eine glänzende Bestätigung am Menschen, als Bayer[1]) nachwies, daß der entmilzte Mensch mehr Eisen als der Normalmensch unter sonst gleichen Bedingungen mit seinen Faeces ausscheidet.

Diese neuen und interessanten Tatsachen, die sich aus den Untersuchungen über die funktionellen Beziehungen zwischen Milz und Leber, sowie über die Eisenausscheidung nach der Entmilzung ergaben, mußten naturgemäß den Ausgangspunkt von neuen und nicht weniger interessanten Studien bilden, unter welchen zwei sofort meine Aufmerksamkeit erregten.

a) Wie verhält sich bei entmilzten Tieren die Eisenausscheidung mit der Galle? Erfährt sie wie der Gallenfarbstoff eine wesentliche Verringerung infolge der Entmilzung?

b) Welche Wirkung übt die Milzextirpation auf den Eisengehalt des Blutes aus? Ist die Steigerung der Eisenelimination mit dem Kote nach Entmilzung vielleicht von Modifikationen im Eisengehalt des Blutes begleitet?

a) Das Eisen in der Galle nach der Entmilzung.

Zur Lösung dieser Aufgabe habe ich zunächst einen Hund und eine Hündin von nahezu gleichem Alter und Gewicht, kräftig und gut genährt, der vollständigen Gallenfisteloperation unterworfen.

Schon seit 1889 bewies Novi[2]) durch meisterhafte Versuche, daß Hunde mit Gallenfistel sich noch lange wohlbefinden können. Er bemerkte, daß Hunde von einer gewissen Größe die vollständige Gallenfisteloperation während wenigstens 9 Monate ertragen können, ohne merkliche Störungen, außer einer großen Gefräßigkeit, aufzuweisen.

[1]) R. Bayer, Mitteilungen aus dem Grenzgeb. d. Med. u. Chir. **21**, 338; **22**, 111 u. 532.

[2]) Ivo Novi, Memorie della R. Acc. delle Scienze dell' Istit. di Bologna (4) **9**, 1889 und Annali di Clinic. e Farmacol. (5) **11**, 1890.

Von meinen Hunden wog das Männchen 23 kg, das Weibchen 24 kg.

Als die zwei Tiere nach der Operation sich vollkommen erholt hatten, wurde ihnen eine Kost von 500 g magerem Pferdefleisch und 500 g Brot täglich verabreicht. Fleisch und Brot wurden zusammengekocht und durch Zusatz von Wasser auf 2 kg gebracht. Diese Fütterungsweise wurde lange fortgesetzt, bevor der eigentliche Versuch einsetzte; während desselben sammelte man die Galle jeden zweiten Tag, da man beobachtet hatte, daß bei täglichem Sammeln die von demselben Tier gelieferten Gallenmengen, auch unter sonst unveränderten experimentellen Bedingungen, zu große Schwankungen zeigten. Die Sammlung der Galle währte jedesmal 9 Stunden vom Augenblick der Verabreichung der Nahrung an. Sämtliche Galle wurde zur Eisenbestimmung nach Neumann verwendet. Ich bin zur Überzeugung gelangt, daß man mit dieser Methode nur unter genauer Rücksichtnahme auf die Konzentration der Flüssigkeit, in welcher die Bestimmung stattfinden soll, gute Resultate erzielt. Es ist notwendig, den Eisenzinkphosphatniederschlag in einer womöglich immer gleichen Salzsäuremenge aufzulösen und die gleiche Jodkalium- und Stärkekleistermenge hinzuzufügen. Die gleiche Beobachtung machten in jüngster Zeit Abderhalden und Hanslian[1]), welche die große Wichtigkeit, die die Konzentration der Lösung bei der Eisenbestimmung nach Neumann besitzt, hervorhoben.

Zweieinhalb Monate nach Anlegung der Gallenfistel wurde ein Hund, das Männchen, entmilzt, und zwei Monate nach der Entmilzung (also viereinhalb Monate nach der Fistel) trat das Tier neuerdings in den Versuch ein, nachdem man es seit längerer Zeit einer Vorperiode unterzogen hatte, in welcher ihm die gleiche Fütterung wie vor der Milzextirpation verabreicht wurde. Wie bereits erwähnt, bestand dieselbe in 500 g Pferdefleisch und 500 g Brot zusammengekocht und mit Wasser auf 2 kg gebracht. Diese ausgiebige und ziemlich eisenreiche Kost war hinreichend, um Hämoglobin und rote Blutkörperchen, die infolge der Entmilzung eine Verminderung er-

---

[1]) Abderhalden und Hanslian, Zeitschr. f. physiol. Chem. 80, 130, 1912.

fahren hatten, wieder auf die der Norm sehr naheliegenden Werte zu bringen[1]).

Da aber bei Tieren mit vollständiger Gallenfistel die fortwährend nach außen abfließende Galle für den Organismus notwendigerweise verloren geht, und der Leberdarmkreislauf der Galle und infolgedessen auch des darin enthaltenen Eisens[2]) sich nicht mehr vollziehen kann, mußte durch den Versuch festgestellt werden, ob bei fortgesetztem Einhalten dieser Bedingungen auch der Eisengehalt der Galle schon unabhängig vom Fehlen der Milz modifiziert wurde. Demgemäß extirpierte man der Hündin die Milz nicht, sondern benützte sie als Kontrolltier. Sie wurde derselben Behandlung unterworfen wie der entmilzte Hund, und man ging beim Aufsammeln der Galle und der Eisenbestimmung in der Galle in derselben Weise vor, wie beim Versuch am entmilzten Hund.

Versuch mit Entmilzung.

22. II. 1912. Kräftiger Bastardhund von 23 kg Gewicht. Hb 92. Rote Blutkörperchen 6 200 000.

Man praktiziert die vollständige Gallenfistel mit Ausschneiden eines Teiles des Choledochus.

1. IV. Der Hund befindet sich ganz wohl, nachdem man ihm seit 20 Tagen 500 g mageres Pferdefleisch und 500 g Brot, zusammengekocht, verabfolgt. Gesamtgewicht von fester und flüssiger Nahrung 2 kg.

20. IV. (ca. 2 Monate nach Anlegung der Gallenfistel). Man stellt das Sammeln der Galle ein, ohne den Hund in das Gestell zu setzen, da er gut und fügsam ist und ruhig den Behälter trägt, in welchen die Galle durch eine in der Fistel befestigte Kanüle fließt. Das Sammeln dauert vom Augenblick der Fütterung täglich 9 Stunden und wird 6 mal wieder-

[1]) Ein Schüler Ashers, Vogel, fand, daß junge milzlose Hunde mit einer eisenarmen Kost eine starke und dauernde Verminderung der Blutkörperchen und des Hämoglobins, im Vergleich zu den Kontrolltieren, zeigen. Es genügt aber, den jungen entmilzten Hunden eine eisenreiche Nahrung zu verabreichen, um Blutkörperchenzahl und Hämoglobinmenge wieder zur Norm zurückkehren zu sehen (diese Zeitschr. **43**, 386, 1912).

[2]) Schon im Jahre 1872 hatte Lussana die geniale Idee eines enterohepatischen Kreislaufes des Eisens ausgesprochen, wie Schiff ihn für die Galle behauptet hatte. Die Untersuchungen von Novi über das Eisen der Galle bilden eine wichtige Stütze für die Annahme von Lussana (Novi, zit. Arbeit).

holt. Der Hund wird jeden zweiten Tag dem Versuche unterworfen, bekommt aber stets die gleiche Nahrung, auch in den Tagen, wo die Galle nicht gesammelt wird.

	Gallenausscheidung		Eisengehalt der Galle	
	Gesamtmenge ccm	Menge pro Stunde ccm	Gesamtgehalt mg	Prozentsatz mg
20. IV.	70	7,77	1,60	2,28
23. „	102	11,34	2,02	1,98
26. „	80	8,89	1,64	2,05
29. „	75	8,33	1,75	2,50
1. V.	100	11,11	2,01	2,01
4. „	90	10,00	2,40	2,66
Im ganzen	517		11,42	

Galle. Durchschnittsmenge pro Stunde 9,57 ccm.

Eisen. Durchschnittsmenge pro 100 Galle 2,25 mg.

9. V. Hb 90. Rote Blutkörperchen 5950000. Gewicht 22,600 kg. Man extirpiert die Milz.

20. VI. Der Hund befindet sich wohl, nachdem er seit drei Wochen 500 g Brot und 500 g mageres Pferdefleisch, zusammengekocht und durch Zusatz entsprechender Wassermenge auf 2 kg gebracht, erhält.

10. VII. (2 Monate nach der Entmilzung und $4^1/_2$ Monate nach Anlage der Gallenfistel.) Das Tier wiegt 22,650 kg. Hb 85. Blutkörperchen 5700000. Man stellt den Versuch ein und sammelt die Galle.

	Gallenausscheidung		Eisengehalt der Galle	
	Gesamtmenge ccm	Menge pro Stunde ccm	Gesamtgehalt mg	Prozentsatz mg
10. VII.	95	10,55	1,50	1,57
12. „	90	10,00	1,56	1,73
15. „	110	12,22	1,64	1,49
18. „	88	9,77	1,56	1,76
21. „	96	10,66	1,60	1,66
24. „	100	11,11	1,58	1,58
Im ganzen	579		9,44	

Galle. Durchschnittsmenge pro Stunde 10,72 ccm.

Eisen. Durchschnittsmenge pro 100 Galle 1,63 mg.

579 — 517 ccm = 62 ccm Überschuß an ausgeschiedener Galle während der ganzen Versuchszeit nach der Entmilzung.

10,72 — 9,57 ccm = 1,15 ccm Überschuß an ausgeschiedener Galle im Durchschnitt pro Stunde nach der Entmilzung.

11,42 — 9,44 mg = 1,98 mg Überschuß an dem mit der Galle ausgeschiedenen Eisen während der ganzen Versuchszeit vor der Entmilzung.

2,25 — 1,63 mg = 0,62 mg Plus an Eisengewicht in 100 Galle vor der Milzexstirpation.

Kontrollversuche.

22. II. 1912. Kräftige Hündin von 24 kg Gewicht. Hb 78. Rote Blutkörperchen 5648000.

Aus einer Verzweigung der rechten Arteria femoralis fängt man 16,30 g Blut in einer oxalathaltigen Natriumchloridlösung auf. Die Eisenbestimmung nach Neumann ergibt:

in 16,30 g Blut 9,23 mg Eisen, entsprechend 56,62 mg pro 100 Blut.

Man legt die vollständige Gallenfistel mit Ausschneidung eines Teils des Choledochus an.

20. III. Man stellt die übliche Fütterungsweise an: mageres Pferdefleisch 500 g, Brot 500 g, zusammengekocht und mit Wasser auf 2 kg gebracht.

21. IV. (2 Monate nachdem man den Hund an Gallenfistel operiert hatte.) Man beginnt die Gallensammlung. Auch diese Hündin ist fügsam und gutartig, und es ist nicht nötig, sie in das Gestell zu setzen. Das Sammeln dauert ebenfalls 9 Stunden vom Augenblick der Verfütterung und wurde jeden zweiten Tag, im ganzen 6 mal, wiederholt.

	Gallenausscheidung		Eisengehalt der Galle	
	Gesamtmenge ccm	Menge pro Stunde ccm	Gesamtgehalt mg	Prozentsatz mg
21. IV.	89	9,88	2,00	2,24
24. „	80	8,88	1,80	2,25
27. „	95	10,55	2,20	2,31
30. „	76	8,44	1,50	1,97
2. V.	82	9,11	1,58	1,92
5. „	98	10,88	2,05	2,09
Im ganzen	520		11,13	

Galle. Durchschnittsmenge pro Stunde 9,62 ccm.

Eisen. Durchschnittsmenge pro 100 Galle 2,13 mg.

18. VI. Man stellt die übliche Fütterung mit Fleisch und Brot in gleicher Menge wie das vorige Mal an.

8. VII. ($4\frac{1}{2}$ Monate nach Anlegung der Gallenfistel.) Man sammelt wieder die Galle jeden zweiten Tag nach demselben Verfahren wie voriges Mal.

	Gallenausscheidung		Eisengehalt der Galle	
	Gesamtmenge ccm	Menge pro Stunde ccm	Gesamtgehalt mg	Prozentsatz mg
8. VII.	75	8,33	1,44	1,89
11. „	88	9,77	1,62	1,84
14. „	96	10,66	1,98	2,10
17. „	105	11,66	2,09	2,00
20. „	84	9,33	1,56	1,85
23. „	83	9,22	1,74	2,09
Im ganzen	531		10,43	

Galle. Durchschnittsmenge pro Stunde 9,83 ccm.

Eisen. Durchschnittsmenge pro 100 Galle 1,96 mg.

24. VII. Hb 75. Blutkörperchen 5020000, Gewicht 23,800.

Aus einer Verzweigung der linken A. femoralis werden 20,74 g Blut in oxalathaltiger Natriumchloridlösung gesammelt. Man bestimmt das Eisen nach Neumann und findet:

in 20,73 g Blut 11,25 mg Eisen, was einem Prozentsatz von 54,24 mg entspricht: 531 — 520 ccm = 11 ccm Gesamterhöhung der Gallenabsonderung in der zweiten Versuchsperide (4 $^1/_2$ Monate, nachdem die Hündin an Gallenfistel operiert wurde).

9,83 — 9,62 ccm = 0,21 ccm Durchschnittserhöhung der Gallenabsonderung pro Stunde in der zweiten Versuchsperiode.

11,13 — 10,43 mg = 0,70 mg Gesamterhöhung der Eisenausscheidung mit der Galle in der ersten Versuchsperiode (2 Monate nach der Gallenfistelanlage).

2,13 — 1,96 mg = 0,17 mg Erhöhung des Prozentsatzes an Eisen in der Galle während der ersten Versuchsperiode.

56,62 — 54,24 mg = 2,38 mg Verminderung des Prozentsatzes an Eisen im Blute. (5 Monate nach der Anlage der Gallenfistel.)

Aus diesen Versuchen geht mit aller Sicherheit hervor:

1. Die Mehrabsonderung von Galle beim entmilzten Hund. In der Versuchsperiode vor Entfernung der Milz scheidet der Hund im ganzen 517 ccm Galle aus, was einer Durchschnittsmenge von 9,57 ccm pro Stunde entspricht, während nach der Milzexstirpation in genau derselben Zeitdauer 579 ccm Galle, d. h. im Durchschnitt 10,72 ccm pro Stunde gesammelt wurden. Die Gesamterhöhung beläuft sich demzufolge auf 62 ccm, pro Stunde im Durchschnitt 1,15 ccm. Nun wurden die Versuche vor und nach der Entmilzung unter genau denselben Verhältnissen durchgeführt, wenn man von der höheren äußeren Temperatur während der zweiten Versuchsperiode absieht. Es leuchtet aber ein, daß die Erhöhung der äußeren Temperatur ebenfalls zur Verringerung anstatt zur Förderung der Gallenabsonderung hätte beitragen sollen.

Es bleibt also nichts anderes übrig, als die Steigerung der Ausscheidung auf die Milzexstirpation zurückzuführen. Diese Steigerung der Gallenabsonderung ist von einer beträchtlichen Verminderung des Farbstoffgehalts der Galle begleitet, wodurch meine ersten Schlußfolgerungen über die Zusammensetzung der Galle bei milzlosen Hunden eine neue Bestätigung erhalten.

2. **Herabdrückung der Eisenausscheidung mit der Galle nach der Entmilzung**, da die Gesamtmenge des mit der Galle abgesonderten Eisens von 11,42 auf 9,44 mg in der auf die Entmilzung folgenden Zeit sank. Die Gesamtabnahme betrug also 1,98 mg mit Bezug auf die Galle der ganzen Periode, 0,62 mg als Prozentsatz berechnet.

Eine geringe Steigerung der Gallenabsonderung und eine geringe Herabdrückung des Prozentgehalts an Eisen in der Galle selbst wurde auch bei der Normalhündin in der zweiten Versuchsperiode bemerkt, die zeitlich der Gallenaufsammlung beim entmilzten Hund entsprach, also unter gleichem Zeitabstand von der Gallenfistelanlegung. Doch waren diese Abweichungen viel weniger beträchtlich als beim entmilzten Tier. Die gesamte Mehrausscheidung beläuft sich auf nur 11 ccm, also kaum 0,21 ccm pro Stunde im Durchschnitte, und die Verringerung des mit der sämtlichen Galle elimierten Eisens auf nur 0,70 mg, einem Prozentsatze von 0,17 mg entsprechend. Demzufolge zeigte die Normalhündin in der entsprechenden Versuchsperiode eine Mehrausscheidung von Galle, die gegenüber der des entmilzten Hundes ca. den sechsten Teil betrug, und in derselben Periode eine Minderausscheidung von Eisen, die ungefähr den vierten Teil betrug.

Ich weiß nicht, ob diese geringe Eisenabnahme in der Galle sich vergrößert hätte, wenn man die Eisenbestimmung in einer von der Gallenfistelanlegung noch entfernteren Zeit wiederholt hätte, ob nämlich die langsame, graduelle Verminderung des Eisengehalts der Galle eine entfernte Nachwirkung der Gallenfistel ist. Diese Untersuchungen bedürfen einer weiteren Fortsetzung, zumal 5 Monate nach Anlage der Gallenfistel eine sehr geringe, aber sichere Verminderung des Eisens im Blute auftrat. Der Prozentsatz des Eisens im Blute sank von 56,62 auf 54,24 mg, ein Minus also von 2,38 %[1]).

Es sei ferner hervorgehoben, daß die Normalhündin in der zweiten Versuchsperiode, 4 1/2 Monate nach der Gallenfisteloperation, nicht nur eine geringe Abnahme des in der Galle ent-

---

[1]) A. Korsunsky, Arch. f. Anat. und Physiol., Physiol. Abt., Supplementband, **1911**, 363, spricht die Vermutung aus, daß die Galle die Eisenresorption im Darme befördert; doch sind seine Versuche zu unvollständig, um irgendeine Schlußfolgerung zu gestatten.

haltenen Eisens, sondern auch eine schwache Steigerung der Gallenabsonderung zeigte. Allem Anscheine nach fördert und beschleunigt somit die Splenektomie jene Modifikationen der Lebensfunktion, die schon durch die Gallenfistel allein eintreten können[1]).

Wenn die stärkere Verringerung des Eisengehalts der Galle in der Steigerung der Eisenausscheidung mit den Faeces und in der geringen Menge des nach der Milzexstirpation der Leber zufließenden eisenhaltigen Materials seine Ursache findet, so läßt sich vielleicht die erhöhte Gallensekretion durch eine Modifikation der Durchlässigkeit der Leberzelle erklären, woran beide operativen Eingriffe, Gallenfistel und Entmilzung, aber besonders die zweite, beitrugen.

b) Das Eisen des Blutes nach der Splenektomie.

Vergleichen wir nun meine Resultate mit denen der Schüler Ashers und mit den Ergebnissen Bayers, so finden wir in bezug auf den Eisenstoffwechsel bei milzlosen Tieren zwei einander widersprechende Tatsachen. Einerseits wird die Eisenausscheidung mit den Faeces (Großenbacher, Zimmermann, Bayer) gesteigert, andrerseits die Eisenelimination mit der Galle (Pugliese) verringert. Doch ist dieser Widerspruch mehr scheinbar als reell, in Wirklichkeit ergänzen sich die zwei Resultate. Die Steigerung der Eisenausscheidung mit dem Kote muß eine Herabdrückung des Eisens in der Leber (Panà), in der Galle (Pugliese), im Organismus (Gambarati), als Ganzes betrachtet, herbeiführen[2]).

[1]) Ich habe schon erwähnt, daß Novi bei 2 Hunden 9 Monate nach der vollständigen Gallenfisteloperation normale Gallensekretion vorfand. Die Galle enthielt einen bestimmten Prozentsatz an Eisen, der je nach der Fütterungsweise, der Entfernung der Fütterungsaufnahmen, und daher der Sekretionsgeschwindigkeit schwankte. Unbeachtet dessen, daß auch bei meiner Hündin die Modifikationen der Gallenabsonderung geringfügig sind, leuchtet es ein, daß nicht alle Tiere auf eine verhältnismäßig so schwere Operation wie die vollständige Gallenfistel identisch reagieren können.

[2]) Herr Kollege Prof. Marcacci, dem ich für das diesen Untersuchungen gewidmete Interesse lebhaften Dank sage, hat auf die Möglichkeit hingewiesen, daß die Eisenabnahme in der Galle meiner entmilzten Hunde von einer schlechteren Ausnutzung in der Nahrung enthaltenen Eisens seitens des Darmes, unter dem Einflusse der Entmilzung,

Es unterliegt keinem Zweifel, daß hier eine Kompensationswirkung im Spiele ist, eine Anstrengung des Organismus, die quantitativen Veränderungen des Eisens im Blute, und infolgedessen des Hämoglobins, das von allen Körperbestandteilen am meisten für seine Bildung und Funktion des Eisens bedarf, abzuschwächen. Eine weitere Grundlage für diese Anschauung liefern meine folgenden Versuche, durch die der Eisengehalt des Blutes vor und nach der Milzexstirpation festgestellt wird.

15. IV. Um jede möglicherweise vom Alter und der Fütterungsweise herrührende Beeinflussung der Blutzusammensetzung zu vermeiden, wählte ich zwei erwachsene Hunde von 24 und 20 kg Gewicht und verabreichte ihnen als Futter Brot im Verhältnis von täglich 50 g pro Kilogramm ihres Gewichts.

Versuch 1.

6. V. Der erste Hund wiegt immer 24 kg. Hb 65. Rote Blutkörperchen 5600000.

Aus einer kleinen Verzweigung der rechten A. femoralis entnehme ich 32,27 g Blut in physiologischer Natriumchloridlösung, die 3 ‰ Natriumoxalat enthält. Die Eisenbestimmung nach Neumann gibt:

in 32,27 g Blut 19,28 mg Eisen
„ 100 „ „ Fe = **59,74** mg.

9. V. Das Tier wird entmilzt.

10. VI. (1 Monat nach der Entmilzung). Gewicht 24,500 kg. Hb 60. Rote Blutkörperchen 4800000. Aus einer kleinen Verzweigung der linken A. femoralis entnehme ich 31,15 g Blut in oxalathaltiger Natriumchloridlösung. Die Bestimmung des Eisens nach Neumann ergibt:

in 31,15 g Blut 15,20 mg Eisen
„ 100 „ „ Fe = **48,80** mg.

10. VII. (2 Monate nach der Entmilzung). Gewicht 24,150 kg. Rote Blutkörperchen 5500000. Hb 63.

---

herrühre. Wenn dem so wäre, sollten zwischen Milz und Darm solche funktionelle Beziehungen bestehen, daß der Darm nach Entfernung der Milz weniger Eisen aufnehmen und mehr ausscheiden sollte. Der Umstand aber, daß bei meinen entmilzten Hunden (wovon einer am Leben ist und sich seit 1 Jahre ganz wohl befindet) die Resorptionsfunktionen des Darmes vollkommen gut verliefen, daß schließlich das Eisen des Blutes, Blutkörperchen und Hämoglobin nach einiger Zeit den Normalwert erreichten und dauernd beibehielten, hat mich zur Überzeugung geführt, daß die Möglichkeit dieses Einflusses der Milz auf die Resorption des in der Nahrung enthaltenen Eisens auszuschließen sei.

Ich entnehme aus der rechten A. femoralis 31,42 g Blut in oxalathaltiger Natriumchloridlösung. Man bestimmt das Eisen nach der üblichen Methode von Neumann und erhält:

in 31,42 g Blut 18,73 mg Eisen
„ 100 „ „ Fe = **59,61** mg.

Versuch 2.

6. V. Der zweite Hund wiegt 20 kg. Hb 78. Rote Blutkörperchen 6200000. Aus einer kleinen Verzweigung der rechten A. femoralis fange ich in oxalhaltiger Lösung 14,83 g Blut auf. Die Eisenbestimmung nach Neumann ergibt:

in 14,83 g Blut 9,26 mg Eisen
„ 100 „ „ Fe = **62,44** mg.

9. V. Es wird die Milz exstirpiert.

10. VI. (1 Monat nach der Entmilzung). Gewicht 19,900 kg. Hb 70. Rote Blutkörperchen 5580000.

Aus einer Verzweigung der linken A. femoralis fange ich in oxalathaltiger Lösung 16,39 g Blut:

in 16,39 g Blut 9 mg Eisen
„ 100 „ „ Fe = **54,91** mg.

10. VII. (2 Monate nach der Milzexstirpation). Gewicht 20,350 kg. Hb 80. Rote Blutkörperchen 6250000.

Aus der rechten A. femoralis werden 18,60 g Blut in oxalathaltiger Lösung aufgefangen:

in 18,60 g Blut 11,70 mg Eisen
„ 100 „ „ Fe = **62,90** mg.

Diese Versuche bedürfen keiner langen Besprechung, so einleuchtend sind die Ergebnisse. Die Entmilzung verursachte zunächst Verminderung der roten Blutkörperchen, des Hämoglobins und des Eisens im Blute.

Beim 1. Versuch enthielt das Blut 1 Monat nach der Entmilzung noch **10,94** mg-% Eisen weniger als vor der Entmilzung; beim 2. Versuch war nach derselben Zeit die Abnahme geringer, jedoch immerhin beträchtlich, da sie **7,53** mg-% betrug. 2 Monate nach der Entmilzung sind dagegen Blutkörperchen, Hämoglobin und Eisen zur Norm zurückgekehrt.

Also verursacht die Splenektomie eine Eisenverminderung nur in einer ersten Zeit, in der gleichfalls nach einstimmigen Behauptungen aller Forscher, die mit dem Einfluß der Milzexstirpation auf die Blutzusammensetzung sich befaßten, eine beträchtliche Verminderung der roten Blutkörperchen und des Blutfarbstoffs stattfindet. Später bleiben diese Folgen der Ent-

milzung aus und das Eisen sowie die roten Blutkörperchen und das Hämoglobin erreichen, trotz der Steigerung der Eisenelimination mit dem Kote, ihren ursprünglichen Wert.

Und wenn also trotz dieser höheren Eisenabgabe mit den Faeces das Eisen im Blute bis zur Norm wieder zunimmt, wird es dem Kompensationsgesetz gemäß in der Leber und in anderen Körperteilen eine Herabdrückung erfahren müssen, wenn die durch die Nahrung zugeführte Eisenmenge unverändert bleibt und nicht stark ist, wie es eben bei meinen Hunden durch Verabreichung von Brot in stets gleichen Mengen durchgeführt wurde. In dieser Weise erhalten ihre Aufklärung sowohl die geringere von Panà in der Leber von entmilzten Meerschweinchen beobachtete Eisenmenge, wie der geringere Eisengehalt im Körper von entmilzten Fröschen (Gambarati) und die von mir nachgewiesene Verringerung der Eisenausscheidung mit der Galle.

Durch Verabreichung einer eisenreichen Nahrung an den entmilzten Hund wird der Kompensationsprozeß im Blute beschleunigt, wie Vogel unter Leitung Ashers nachwies, da trotz der erhöhten Eisenabgabe mit den Faeces eine erhebliche Metallmenge zum Wiederaufbau des infolge der Entmilzung verlorenen Hämoglobins dem Organismus zur Verfügung steht.

Zur Frage nach der chemischen Zusammensetzung des nach dem Zinkverfahren hergestellten sog. „kolloidalen Stickstoffs" aus normalem Menschenharn.

Von

H. Thar und J. Beneslawski.

(Aus dem biochemischen Laboratorium des kaiserlichen Instituts für experimentelle Medizin zu St. Petersburg.)

(Eingegangen am 7. Juni 1913.)

Im Jahre 1905 hat E. Salkowski[1]) gezeigt, daß man durch Fällung von eingedampftem Harn mit Alkohol einen Niederschlag erhält, der organisch gebundenen Stickstoff in Form nicht dialysabler, hochmolekularer Verbindungen, vermutlich als Oxyproteinsäuren, Polypeptide und als stickstoffhaltige Kohlenhydrate enthält.

Nach Salkowski[2]) ist das Verhältnis der in der Alkoholfällung vorhandenen Stickstoffmenge, d. h. des sog. „kolloidalen Stickstoffs" zur Gesamtstickstoffmenge, recht konstant (3 bis 4% des Gesamt-N) und von klinischer Bedeutung, besonders für die Carcinomdiagnose (bis 9,31% des Gesamt-N).

Der Maximalgehalt des sog. „kolloidalen Stickstoffs" im normalen Menschenharn (ca. 1,5%) erreichte niemals den Minimalgehalt (2,15%) im Harn von Carcinomkranken. Bei einem Fall von akuter, gelber Leberatrophie fand Salkowski[3]) im Alkoholniederschlage 28,1% des Gesamtstickstoffs.

Die Bestimmung dieses „kolloidalen Stickstoffs" durch Alkoholfällung geschieht nach besonderen Angaben Salkowskis[4]).

Eine Vereinfachung der Methodik haben E. Salkowski und K. Kojo[5]) dadurch erreicht, daß sie auf die Alkoholfällung verzichten

---

[1]) Berl. klin. Wochenschr. **1905**, Nr. 51, 52.

[2]) Berl. klin. Wochenschr. **1910**, Nr. 12.

[3]) Berl. klin. Wochenschr. **1905**, Nr. 51, 52.

[4]) Berl. klin. Wochenschr. **1910**, Nr. 38.

[5]) Berl. klin. Wochenschr. **1910**, Nr. 50.

und den Stickstoffgehalt der durch Schwermetallsalze erzeugten Niederschläge aus Harn bestimmen. Es wurden solche Metallsalze verwendet, die Harnstoff und die gewöhnlichen stickstoffhaltigen Harnbestandteile möglichst wenig fällen (Bleisubacetat, Zinksulfat, Zinkchlorid).

K. Kojo[1]) gibt für den Zinkniederschlag folgende Zusammensetzung an:

$$C_{32.93}H_{3.20}N_{20.12}S_{0.93}O_{42.82}.$$

In der durch Schwefelwasserstoff von Zink befreiten Lösung des „kolloidalen Stickstoffs“ fand Kojo nicht unerhebliche Mengen von Harnsäure und gab dadurch den Beweis, daß an der Erhöhung der relativen Stickstoffzahl in den Carcinomfällen, berechnet aus dem Stickstoffgehalt der Zinkniederschläge, die Harnsäure wesentlich beteiligt ist.

M. Kashiwabara[2]) berichtet über das Verhalten der Harnsäure zu Zinksalzen.

Wir wollen hier kurz über die von uns aufgenommene Untersuchung des Zinkniederschlages aus normalem, eiweißfreiem Menschenharn berichten.

100 ccm frischen Menschenharnes wurden nach Kojo[3]) durch vorsichtigen Zusatz von Kalkmilch schwach alkalisiert, mit Chlorcalcium genau ausgefällt, der Niederschlag von Calciumphosphat abfiltriert, ausgewaschen und das Filtrat mit 10%iger wässeriger Zinksulfatlösung ausgefällt, wobei immer für eine schwach alkalische Reaktion gesorgt wurde. Der Niederschlag wurde harnstofffrei (Quecksilberoxydnitrat) und möglichst ammoniakfrei (Neßler) gewaschen und der Stickstoffgehalt nach Kjeldahl ermittelt.

Der Harnsäure- und Purinbasenstickstoff wurde nach Krüger-Schmidt durch doppeltes Fällen als Kupferoxydulverbindung bestimmt.

Der Aminostickstoff wurde nach Hydrolyse des Harnes mit Schwefelsäure nach van Slyke während 6 Minuten bestimmt.

Die verschiedenen Stickstoffverbindungen sind in Prozenten zum Gesamtstickstoff berechnet.

Es wurden verschiedene normale, eiweißfreie Menschenharne untersucht, von denen wir hier nur zwei mit verschiedenem Stickstoffgehalt anführen wollen.

---

[1]) Zeitschr. f. physiol. Chem. 78, 431, 1911.

[2]) Zeitschr. f. physiol. Chem. 84, 223, 1913.

[3]) l. c., S. 424.

Stickstofform	Erster Harn			Zweiter Harn		
	erste Analyse %	zweite Analyse %	Durchschnitt %	erste Analyse %	zweite Analyse %	Durchschnitt %
Gesamtstickstoff	0,97	0,99	0,98	0,66	0,66	0,66
	in Prozenten zum Gesamtstickstoff					
Purinbasen- und Harnsäurestickstoff im Harn	1,05	1,05	1,05	1,05	1,10	1,075
Sog. „kolloidaler Stickstoff" im Zinkniederschlage	1,33	1,13	1,23	1,35	1,15	1,25
Purinbasen- und Harnsäurestickstoff im sog. „kolloidalen Stickstoffniederschlage" (Bestimmung nach Krüger-Schmidt)	1,22	1,10	1,16	1,32	1,18	1,25
Aminostickstoff im Harne vor Fällung des sog. „kolloidalen Stickstoffs"	1,55	1,55	1,55	1,95	1,95	1,95
Aminostickstoff im Harne nach Fällung des sog. „kolloidalen Stickstoffs"	1,53	1,55	1,54	1,84	1,88	1,86

Die Zinkniederschläge enthielten immer Spuren von Ammoniak, das in zwei Analysen nach M. Nencki und J. Zaleski bestimmt wurde (0,03% und 0,015% zum Gesamtstickstoff) und außerdem gleichfalls Spuren von Harnstoff, der nach Hydrolyse mit Schwefelsäure nach van Slyke mit Calciumhydroxyd als Ammoniak ausgetrieben wurde.

Die Harnsäure und die Purinbasen wurden nach Fällung aus dem Harn als Kupferoxydulverbindungen mit Schwefelwasserstoff zersetzt, wiederum gefällt und der Stickstoff ermittelt (Kjeldahl).

Die Fraktion des sog. „kolloidalen Stickstoffs" wurde zu diesem Zweck in $^1/_2$%iger Salzsäure gelöst, die Lösung mit Natriumacetat versetzt, die Harnsäure und die Purinbasen einmal als Kupferoxydulverbindung gefällt und der Stickstoff nach Kjeldahl ermittelt.

Möglicherweise sind die hier etwas höheren Werte durch nur einmalige Fällung als Kupferoxydulverbindungen zu erklären; vielleicht wird auch der einmal mitgerissene Harnstoff weiter mitgefällt.

Das Filtrat und das Waschwasser vom sog. „kolloidalen Stickstoff" aus 200 ccm Harn wurden bis auf 100 ccm einge-

engt und die Fällung der Purinbasen und der Harnsäure ausgeführt. Erst nach 3 Minuten langem Sieden entstand ein sehr geringer, wenig charakteristischer Niederschlag, der abfiltriert, mit Schwefelwasserstoff zersetzt, nochmals als Kupferoxydulverbindung gefällt und dann auf Stickstoff analysiert wurde.

Auf 100 ccm Harn berechnet, waren es 0,45 mg Stickstoff, d. h. 0,07 % vom Gesamtstickstoff.

Es wurde außerdem eine Fällung des sog. „kolloidalen Stickstoffs" aus 3 l normalen Menschenharnes ausgeführt, der Niederschlag harnstoff- und ammoniakfrei gewaschen, in $^1/_2$ %iger Salzsäure gelöst, mit Natriumacetat versetzt, mit Schwefelwasserstoff zerlegt und bis auf 600 ccm eingeengt. 225 ccm dieser Lösung wurden nach van Slyke mit Schwefelsäure hydrolysiert, das aus Spuren von Harnstoff entstandene Ammoniak durch Calciumhydroxyd entfernt und der Aminostickstoff nach van Slyke bestimmt.

Auf Gesamtstickstoff berechnet, waren es 0,075 %.

Da so große (aus 3 l Harn) Niederschläge schwerer auszuwaschen sind und hier nach Hydrolyse mit Schwefelsäure durch Calciumhydroxyd deutlich Ammoniak entwich, so ist die Anwesenheit von Spuren von Aminostickstoff wohl auch nur durch nicht genügendes Auswaschen der übrigen Harnbestandteile zu erklären.

In einer zweiten Portion (225 ccm) der eben beschriebenen Lösung des „kolloidalen Stickstoffs" aus 3 l Harn wurde die Harnsäure durch Braunstein, in das durch Kupfersulfat und Natriumbisulfit nicht fällbare Allantoin übergeführt und die Purinbasen als Kupferoxydulverbindung gefällt, mit Schwefelwasserstoff zersetzt, trocken gedampft und die für Xanthin-Guanin charakteristischen Farbenreaktionen ausgeführt.

Eine dritte Portion derselben Lösung wurde im Polarisationsapparat untersucht und erwies sich als optisch inaktiv.

Indem wir die Frage nach der Existenz einer „kolloidalen Stickstoffverbindung" im normalen Menschenharn offen lassen, können wir auf Grund unserer Untersuchungen sagen, daß der Stickstoff des durch Zinksulfat aus normalem Menschenharn erzeugten Niederschlages aus Harnsäure und Purinbasen besteht, die Spuren von Harnstoff, Ammoniak und den übrigen Harnbestandteilen enthalten.

Über den Ursprung optisch-aktiver Verbindungen in der lebenden Zelle; künstliche Darstellung optisch-aktiver Verbindungen ohne Anwendung asymmetrischer Moleküle oder asymmetrischer Kräfte.

Von

Emil Erlenmeyer.

(Aus dem chemischen Laboratorium der Kaiserlichen Biologischen Anstalt zu Dahlem.)

(Eingegangen am 6. Juni 1913.)

Mit 4 Figuren im Text.

Die Frage nach dem Ursprung der einseitig asymmetrischen, optisch-aktiven Verbindungen in der lebenden Zelle ist bis heute noch ungelöst geblieben.

Pasteur sowie van't Hoff neigen zu der Ansicht, daß bei der Entstehung dieser asymmetrischen Verbindungen im Organismus eine asymmetrische Kraft wirksam sei, wodurch nur die eine asymmetrische Modifikation, nicht aber ihr Spiegelbild gebildet werde.

Diese Ansicht auf ihre Richtigkeit zu prüfen, haben eine Reihe von Forschern[1]) unternommen, indem sie Synthesen von Körpern mit asymmetrischen Kohlenstoffatomen im elektromagnetischen Felde oder bei Durchstrahlung mit zirkularpolarisiertem Licht vornahmen, in der Hoffnung, so direkt zu einseitig asymmetrischen, aktiven Molekülen zu gelangen.

Alle bisher ausgeführten Versuche haben indessen ein positives Resultat nicht geliefert.

---

[1]) Byk, Zeitschr. f. physikal. Chem. **49**, 641, 1904; daselbst weitere Literatur. — Boyd, Inaug.-Diss. Heidelberg 1896. — J. Meyer, Chem. Ztg. **1904**, I., S. 41. — Vgl. auch C. Neuberg, Beziehungen des Lebens zum Licht, S. 61 u. 62. Allg. Med. Verlagsanstalt, Berlin 1913.

Der Umstand, daß, wenn auch relativ selten, das Vorhandensein von Racemkörpern oder von Gemischen von Racemkörpern mit einer der aktiven Komponenten im Pflanzen- bzw. Tierorganismus nachgewiesen werden konnte, wie z. B. die α-Milchsäure, das Asparagin, die Äpfelsäure, die Traubensäure, die Arabinose und das Dipenten, ließ mich die Möglichkeit in Erwägung ziehen, daß die molekular asymmetrischen Verbindungen auch im lebenden Organismus primär zu gleichen Teilen in d- und l-Modifikationen gebildet werden, diese Gemische dann aber sekundär in die Komponenten getrennt und verschieden verarbeitet werden, so daß dann eine Komponente optisch-aktiv in Erscheinung tritt.

Eine solche Trennung und verschiedene Verarbeitung der Komponenten einer Racemverbindung würde aber voraussetzen, daß die beiden Komponenten unter Umständen in Löslichkeit, Reaktionsgeschwindigkeit usw. verschieden sein können.

Aus der Isomerielehre ergeben sich hinsichtlich der Identität isomerer Verbindungen die folgenden Sätze:

1. Chemisch und physikalisch identisch sind nur diejenigen isomeren Substanzen, deren Moleküle sich durch die völlig kongruente Lage aller das Molekül bildenden Atome auszeichnen.

Die chemische Identität folgt a) aus der Gleichheit der unter identischen Bedingungungen entstehenden Umwandlungsprodukte, b) aus der Gleichheit der Reaktionsgeschwindigkeit bei allen Reaktionen unter identischen Bedingungen.

Die physikalische Identität folgt:

a) aus dem gleichen spez. Gewicht,
b) „ „ „ Siedepunkt bzw. Schmelzpunkt,
c) „ „ „ Energieinhalt,
d) „ der „ Leitfähigkeit,
e) „ „ „ Löslichkeit,
f) „ „ „ Krystallform,
g) „ dem „ Verhalten

gegenüber dem polarisierten Licht u. a. m.

2. Chemisch und physikalisch identisch bis auf Drehungsvermögen und Hemiëdrie sind weiterhin alle isomeren Verbindungen, deren Moleküle Spiegelbilder zueinander vorstellen.

Da die Eigenschaften isomerer Verbindungen nur von der relativen Lage und der Entfernung der Atome im Molekül ab-

hängig sind, so ist es klar, daß spiegelbildliche Moleküle sich in allen Eigenschaften, die auf molekulare Dimensionen und Attraktionen zurückzuführen sind, identisch sein müssen, und daß sich ihre Dissymmetrie nur durch die Enantiomorphie der Krystalle, durch ihr Drehungsvermögen und ihr verschiedenes Verhalten gegenüber einseitig asymmetrischen Körpern und damit auch gegenüber lebenden Organismen äußern kann.

Dieser Satz 2. ist bereits von Pasteur und von van't Hoff aufgestellt worden und hat sich, wie die Zusammenstellung in dem Lehrbuch von Werner ergibt, auch im weiteren Verlauf der Forschung bewährt.

Aus diesen beiden Sätzen über die Identität isomerer Verbindungen folgt unmittelbar der Satz über die Verschiedenheit isomerer Verbindungen:

3. Chemisch und physikalisch verschieden sind alle Isomeren, die weder eine kongruente noch eine spiegelbildliche Anordnung der Atome im Molekül aufweisen.

Bindungsisomerie.

Bei den bisher allein in Betracht gezogenen Isomeren, den Struktur- und Stereoisomeren, werden die relativen Lageverschiedenheiten auf die verschiedene gegenseitige Bindung der Atome durch die Affinitäten zurückgeführt, und man kann daher diese Isomeren unter der Bezeichnung „Bindungsisomere“ zusammenfassen.

Nimmt man nun an, daß andere Lageverschiedenheiten als die durch die verschiedene gegenseitige Bindung hervorgebrachten nicht existieren, so kommt man zu der zuerst von van't Hoff[1]) ausgesprochenen Ansicht, daß man sich die Moleküle als stabile Systeme von materiellen Punkten vorzustellen hat.

Würde diese Auffassung van't Hoffs unter allen Umständen zu Recht bestehen, so wären die Racemverbindungen als Gemisch zweier stabiler spiegelbildlicher Punktsysteme aufzufassen. Die ihnen entsprechenden Moleküle müßten in allen von der Dissymmetrie unabhängigen Eigenschaften, wie Löslichkeit, Reaktionsgeschwindigkeit usw. identisch sein und könnten,

---

1) 2. Aufl., S. 4.

abgesehen von der Trennung durch Auslesen der d- und l-Krystalle, nur durch Vereinigung mit einseitig asymmetrischen Verbindungen getrennt werden. Die hierbei entstehenden zwei Moleküle:

$$\begin{array}{l} +A \\ -B \end{array} \text{ und } \begin{array}{l} -A \\ -B \end{array}$$

müssen, weil sie weder kongruent noch spiegelbildlich sind, nach Satz 3 chemisch und physikalisch verschieden und durch ihre Eigenschaftsunterschiede trennbar sein.

Die Trennung einer Racemverbindung ohne Zuhilfenahme asymmetrischer Verbindungen durch Unterschiede in Löslichkeit oder Reaktionsgeschwindigkeit oder in anderen Eigenschaften wäre aber wegen der Identität ihrer Komponenten für alle Zeiten ausgeschlossen.

Relative Isomerie.

Nun schreibt aber van't Hoff bereits in der 1. Auflage seiner Broschüre, Seite 5:

„Entsprechend der vorhergehenden Betrachtung seien auch hier wieder die sechs freien Affinitäten (von *C—C*) durch sechs einwertige Gruppen R_1, R_2, R_3 usw. abgesättigt. Nehmen wir das so erhaltene System als ein stabiles an, so ergibt eine einfache Überlegung, daß zwölf in bezug auf ihre gegenseitige Lage verschiedene Anordnungen der sättigenden Gruppen möglich sein werden, die im folgenden in der Weise aufgeführt sind, daß unter eine jede an das eine Kohlenstoffatom gebundene Gruppe die im System zunächst liegende Gruppe des anderen Kohlensoffatoms gestellt ist:

1. $R_1\ R_2\ R_3$	2. $R_1\ R_2\ R_3$	3. $R_1\ R_3\ R_2$	4. $R_1\ R_3\ R_2$
$R_4\ R_5\ R_6$	$R_4\ R_6\ R_5$	$R_4\ R_5\ R_6$	$R_4\ R_6\ R_5$
5. $R_1\ R_2\ R_3$	6. $R_1\ R_2\ R_3$	7. $R_1\ R_3\ R_2$	8. $R_1\ R_3\ R_2$
$R_5\ R_6\ R_4$	$R_6\ R_5\ R_4$	$R_5\ R_6\ R_4$	$R_6\ R_5\ R_4$
9. $R_1\ R_2\ R_3$	10. $R_1\ R_2\ R_3$	11. $R_1\ R_3\ R_2$	12. $R_1\ R_3\ R_2$
$R_6\ R_4\ R_5$	$R_5\ R_4\ R_6$	$R_6\ R_4\ R_5$	$R_5\ R_4\ R_6$

„Hiernach wären also zwölf Möglichkeiten der Isomerie für die allgemeine Formel: C (R_1 R_2 R_3) C (R_4 R_5 R_6) gegeben."

Das ist die dreifache Menge der für diesen Fall nach der van't Hoffschen Formel 2^n berechneten Anzahl von Isomeren, die nur 4 beträgt.

Von den von van't Hoff angeführten denkbaren 12 Isomeren lassen sich, wie leicht zu sehen ist, die Isomeren 5 und 9 aus 1, 6 und 10 aus 2, 7 und 11 aus 3, 8 und 12 aus 4

durch Drehung der Kohlenstoffatome um ihre Bindungsachse ableiten. Für diese Isomeren 5 bis 12 ist charakteristisch, daß die bei ihnen angenommenen relativen Lageverschiedenheiten ohne Bindungswechsel, lediglich durch Drehung um die *C-C*-Achse zustande kommen.

Ich bezeichne diese von van't Hoff vorausgesehenen Isomeren, bei denen die Lageverschiedenheit der Atome bei konstanter Bindung lediglich durch Drehung bewirkt wird, zum Unterschied von den bindungsisomeren Verbindungen als relative Isomere.

Wesentlich ist es, daß van't Hoff die Möglichkeit der Existenz solcher relativer Isomeren in Betracht gezogen hat und zugibt, daß die durch die Drehung hervorgebrachten relativen Lageverschiedenheiten verschiedene Eigenschaften zur Folge haben müssen, da er sonst nicht derart in der Lage der Atome verschiedene Moleküle als isomer bezeichnet hätte.

Auf S. 36 der zweiten Auflage seiner Broschüre sucht er allerdings die Existenzmöglichkeit relativ isomerer Moleküle dadurch zu beschränken, daß er annimmt, daß sie sich jeweils in einer bevorzugten Konfiguration einstellen, wodurch er aber natürlich ihre vorübergehende Existenz zugibt.

In meiner Abhandlung „Theoretische Betrachtungen über die Isomerie bei Äthylenderivaten“[1]) (S. 150ff.) habe ich auf die Notwendigkeit der Berücksichtigung dieser nach van't Hoff denkbaren, relativ isomeren Verbindungen hingewiesen und die aus jeder durch Bindung zusammengehaltenen Atomkombination des Systems C_2 mit verschiedenen Substituenten ableitbaren drei relativ isomeren Modifikationen als α-, β-, γ-Modifikationen bezeichnet.

Eine dieser drei Modifikationen wird auf alle Fälle als begünstigste Konfiguration anzusprechen und stabil sein, während die anderen beiden, je nach den Anziehungsverhältnissen der vorhandenen Gruppen, labilere, energiereichere Konfigurationen vorstellen, die in manchen Fällen existenzfähig sein können; in anderen Fällen aber ist zu erwarten, daß sie wegen zu großer Labilität nur vorübergehend in Lösung existieren und bei der Abscheidung leicht in die stabilste Form übergehen.

[1]) Diese Zeitschr. 35, 149, 1911.

Die Auffindung solcher relativer Isomeren verlangt, da ihre Existenzmöglichkeit bereits von van't Hoff besprochen wurde, ebensowenig die Aufstellung einer neuen Theorie, als wie die Auffindung des Chloralhydrats, das zum Unterschied von den gewöhnlichen Aldehyden in der Hydratform existiert, eine neue Theorie benötigte.

Unter welchen Bedingungen und bei welchen Atomkombinationen relative Isomere existenzfähig sein werden, ist eine Frage, die durch das Experiment von Fall zu Fall entschieden werden muß. Vorübergehend müssen sie auf alle Fälle auftreten können und müssen, selbst wenn die labilen β- und γ-Modifikationen als solche nicht abscheidbar sind, dem Molekül eine Variabilität der Eigenschaften verleihen, die für seine Funktionen im lebenden Organismus von großer Wichtigkeit erscheint.

In meiner oben zitierten Abhandlung habe ich bereits eine Reihe von Beobachtungen angeführt, die die Existenz relativer Isomeren beweisen.

Den wichtigsten Beleg zugunsten dieser Ansicht bildet die Entdeckung einer neuen Äpfelsäure in den Crassulaceen durch Mayer[1]). Aberson[2]) hat diese Säure eingehend untersucht und ihre völlige Verschiedenheit von der gewöhnlichen Äpfelsäure festgestellt und sie bereits den eben dargelegten Anschauungen entsprechend erklärt. Mit der neuen Bearbeitung dieser pflanzenphysiologisch sehr wichtigen Säure sind wir augenblicklich noch beschäftigt. An ihrer selbständigen Existenz und ihrer Verschiedenheit von der gewöhnlichen Äpfelsäure lassen die bisher erhaltenen Resultate bereits keinen Zweifel mehr. van't Hoff, dem die Präparate Abersons vorgelegen haben, hat mir gegenüber verschiedentlich die Richtigkeit der Beobachtungen Abersons betont.

Bezeichnet man die Crassulaceenäpfelsäure als γ-Modifikation und die gewöhnliche Äpfelsäure als α-Modifikation, so fehlt noch eine β-Modifikation.

Von der Äpfelsäure ist bekannt, daß sie je nach der Konzentration ihr Drehungsvermögen ändert (so ist sie z. B. bei

[1]) Landwirtschaftl. Versuchsstationen 21, 277; 30, 217; 51, 335.

[2]) Ber. d. Deutsch. chem. Ges. 31, 1432.

dem Gehalt $p = 34,24$ inaktiv, verdünntere Lösungen drehen nach links, konzentriertere nach rechts). Ich zweifle nicht daran, daß die Veränderlichkeit im Drehungsvermögen bei der Äpfelsäure und bei anderen aktiven Verbindungen durch Konzentrationswechsel oder beim Erwärmen auf solche relative Lageverschiebungen infolge von Drehung um die C—C-Achse zurückzuführen sind.

Ferner ist durch die Untersuchungen von Hagen[1]) bekannt geworden, daß die gewöhnliche Äpfelsäure mit einer Reihe von Basen je nach den Bedingungen zwei gänzlich verschiedene, neutrale Salze zu bilden imstande ist.

Da unsere bisherigen Versuche gelehrt haben, daß diese Salze nicht mit der Crassulaceenäpfelsäure zusammenhängen, so glaube ich, daß man es hier mit Salzen der α- und β-Modifikation der Äpfelsäure zu tun hat, die, an die Basen gebunden, existenzfähig sind.

Ein weiteres sehr interessantes Beispiel von relativer Isomerie haben W. v. Miller und Rohde[2]) bei der Phenylhydrozimtsäure aufgefunden, die in den drei α-, β-, γ-Modifikationen von verschiedenem spezifischen Gewicht existieren kann.

Aus dem Buche von Arzruni[3]): „Beziehungen zwischen Krystallform und chemischer Zusammensetzung" ließen sich noch eine Reihe von Modifikationen anführen, die als relative Isomere anzusprechen sind, die man meist mit den bequemen Ausdrücken „polymorphe Modifikationen" oder „physikalische Isomere" abtun zu können glaubt, ohne sich aber an die Erklärungen zu halten, die die Sachverständigen auf diesem Gebiete von den genannten Ausdrücken gegeben haben.

Auf die Ansicht Hauys, die in dem von ihm aufgestellten Satze: „Identische Substanzen können nur eine und dieselbe Gestalt besitzen" zum Ausdruck kommt, habe ich schon früher hingewiesen. O. Lehmann[4]) stellt in seiner Theorie der physikalischen Isomerie (S. 413) den folgenden Satz auf:

„Kein Körper besitzt mehr als eine Krystallform, oder zeigen zwei Körper verschiedene Krystallformen, so sind sie

[1]) Liebigs Annalen 38, 261 ff., 1841.
[2]) Ber. d. Deutsch. chem. Ges. 25, 2017, 1892.
[3]) Graham Ottos „Ausführliches Lehrbuch der Chemie" 3, 1898.
[4]) Lehmanns „Molekularphysik" 2, 398 bis 415, 1889.

chemisch verschieden, sei es als atomistische oder molekulare Verbindungen."

Arzruni, der in seinem Buche den Polymorphismus behandelt, schreibt dazu: „Man kann wohl das bequeme Wort ‚Polymorphismus' gebrauchen und zugleich als Erklärung des Wesens der Erscheinung die entschieden von allen Theorien annehmbarste, von Herrn Lehmann entwickelte, anerkennen, wie es auch hier geschehen ist."

Da der einzige bei solchen Isomeren zu erwartende chemische Unterschied sich allein in der verschiedenen Reaktionsgeschwindigkeit bemerkbar machen kann, für deren Messung bisher keine leicht ausführbaren Methoden zur Verfügung stehen, so ist es allerdings zu verstehen, daß man diese Arten von Isomeren für chemisch identisch gehalten und sie als physikalische Isomere bezeichnet hat.

Heute gewinnt aber die Auffassung der genannten Sachverständigen auch bei den Chemikern mehr und mehr an Boden, und ich bin überzeugt, daß man mit Hilfe der Theorie von der relativen Isomerie die vorzugsweise physikalischen Verschiedenheiten sogenannter polymorpher Modifikationen ungezwungen durch Lageverschiedenheiten der Atome im Molekül erklären muß, wie bei allen anderen Isomeriefällen.

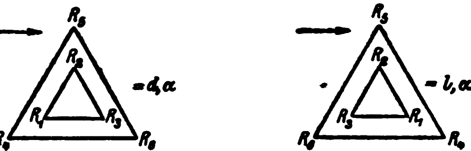
Trennungsmöglichkeit von d,l-Verbindungen auf Grund der Theorie von der relativen Isomerie.

Wie schon erwähnt, muß die Trennung von Gemischen von d- und l-Molekülen durch Löslichkeitsdifferenz oder auch durch andere Eigenschaftsdifferenzen, solange man sie nach van't Hoff als stabile, spiegelbildliche Punktsysteme auffaßt, als unmöglich betrachtet werden, da die Moleküle unter dieser Voraussetzung, nach dem zweiten Identitätssatze, in allen Eigenschaften, mit Ausnahme von Hemiëdrie und Drehungsvermögen, für identisch gelten müssen.

Ganz anders aber, wenn die d- und l-Moleküle keine stabilen Punktsysteme sind, sondern durch Energiezufuhr intramolekular durch Drehung um eine Bindungsachse in relativ isomere Modifikationen überführbar betrachtet werden.

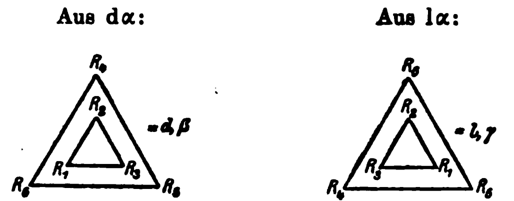
Bringt man ein d- und ein l-Molekül durch die folgenden,

räumlich und spiegelbildlich aufzufassenden Schemata zum Ausdruck:



und nimmt an, daß auf beide Moleküle in demselben Sinne eine geradlinige Kraft, etwa in Form von Wärmestößen, einwirkt und bei beiden Molekülen eine Drehung um die Bindungsachse *C-C* zur Folge hat, so müssen die beiden Moleküle dα und lα durch die im gleichen Sinne wirkende geradlinige Kraft den folgenden Schemata entsprechend verändert werden:

Aus dα: **Aus lα:**



d. h. aus den ursprünglich spiegelbildlichen, identischen Molekülen entstehen so nicht mehr spiegelbildliche und daher in den Eigenschaften, z. B. Energiegehalt, Löslichkeit u. a., verschiedene Moleküle, die sich durch die erworbenen Eigenschaftsunterschiede trennen lassen müssen.

Bei weiterer Drehung im gleichen Sinn muß dann au d, β die d, γ, aus l γ die l β-Modifikation und bei noch weiterer Drehung aus d, γ d, α und aus l, β l, α entstehen.

Bei der ganzen Drehung der ursprünglich spiegelbildlichen Moleküle um 360^0 sind die Moleküle nur in der Anfangsstellung spiegelbildlich und eigenschaftsgleich, in allen andern Stellungen dagegen nicht spiegelbildlich und daher verschieden. Ebensowohl ist es natürlich möglich, daß die gleichgerichteten Stöße die spiegelbildlichen Moleküle in dem entgegengesetzten Sinne in Drehung versetzen, so daß aus d α zuerst δ, γ und dann d β, aus l, β zuerst l, β und dann l γ entsteht, wodurch sich die Veränderungen der Moleküle und ihre Trennungen gerade umgekehrt abspielen werden.

Es ist aber auch der Fall möglich, daß infolge der Anziehungs- und Abstoßungsverhältnisse der Radikale, der Über-

gang von δ, α in δ, β im Vergleich zu dem Übergang von l, α in l, γ so erschwert ist, daß δ, α unverändert bleibt und daneben nur l, γ entsteht, die aber als relativ isomere Modifikationen gleichfalls durch ihre Eigenschaftsunterschiede trennbar sein müssen.

Auf alle Fälle müssen sich spiegelbildliche Moleküle gleichgerichteten Kräften gegenüber verschieden verhalten, indem sie in nicht mehr spiegelbildliche und daher trennbare Modifikationen übergehen.

Auf Grund dieser Erwägungen kam ich zu der Überzeugung, daß es gelingen müsse, bei geeigneten Racemverbindungen oder Gemischen von spiegelbildlichen Modifikationen ohne irgendeinen asymmetrischen Einfluß und ohne Anwendung bereits asymmetrischer Moleküle in der geschilderten Weise eine Trennung in die Rechts- und Linksmodifikation zu erzielen.

Schon seit Jahren existiert in der Literatur ein hierhergehöriger Fall, der aber seltsamerweise nur wenig Beachtung gefunden hat.

Nach Pasteur und van't Hoff müssen in Übereinstimmung mit Satz 2 die spiegelbildlichen δ- und l-Antipoden in bezug auf ihre physikalischen Eigenschaften, insonderheit in ihrer Löslichkeit identisch sein.

Nach Piutti[1]) sollen nun aber die beiden Asparaginantipoden hiervon eine Ausnahme bilden und derart verschieden löslich sein, daß es ihm möglich war, sie durch ihre Löslichkeitsdifferenz zu trennen.

An der gelungenen Trennung der beiden Asparagine nach verschiedener Löslichkeit kann um so weniger gezweifelt werden, da die Trennbarkeit auf diese Weise durch neuere Versuche von Pringsheim[2]) bestätigt wurde.

Auch Pringsheim behauptet, daß d-Asparagin in Wasser löslicher als l-Asparagin sei, weil er es aus einem Gemisch beider nach Abscheidung des l-Asparagins aus der Mutterlauge erhalten konnte. Löslichkeitsbestimmungen hat er jedoch nicht ausgeführt.

Da aber die beiden von Piutti nach ihrer verschiedenen Löslichkeit getrennten Asparagine bei langsamer Krystallisation gut ausgebildete, nach krystallographischer Untersuchung spiegelbildliche Krystalle liefern, so zog ich den Schluß nach Satz 2, daß die Asparagine in dieser Form identische Löslichkeit besitzen müssen und daß die beobachtete Löslichkeitsdifferenz erst

[1]) Ber. d. Deutsch. chem. Ges. **19**, 1691, 1886.

[2]) Zeitschr. f. physiol. Chem. **65**, 89, 1910.

bei der Trennung durch partielle und zwar verschiedenartige Umwandlung der Antipoden in nicht mehr spiegelbildliche, verschieden lösliche, relativ isomere Modifikationen beim Erwärmen hervorgebracht würde.

Experimenteller Teil.

Darstellung, Trennung und Verhalten der beiden Asparagine und ihrer Mischungen.

Gemeinsam mit

G. Hilgendorff.

Zur Prüfung des obigen Schlusses auf seine Richtigkeit wurden zwei Versuche, ausgehend von größeren Mengen natürlichen Kahlbaumschen l-Asparagins, angestellt, in Anlehnung an das von Pringsheim angegebene Verfahren, um auf diesem Wege das angeblich leichter lösliche Antiasparagin zu gewinnen und kennen zu lernen.

Das l-Asparagin wurde in Portionen zu 30 g in 10%iger wässeriger Lösung während 16 Stunden am Rückflußkühler gekocht, die Lösungen sodann zur Abscheidung der am schwersten löslichen Anteile auf dem Dampfbad auf ca. $^1/_8$ des Volumens eingedampft und zur Krystallisation gestellt. Dabei schieden sich etwa $^2/_3$ des angewandten Asparagins ab, das von neuem in den Versuch gebracht werden kann.

Die deutlich süß schmeckenden Mutterlaugen, die das leichter lösliche Antiasparagin enthalten mußten, wurden vereinigt weiter verarbeitet.

Gewinnung des süß schmeckenden Antiasparagins aus den vereinigten Mutterlaugen des ersten Versuchs durch fraktionierte Krystallisation.

Beim fraktionierten Einengen der Mutterlauge schieden sich hintereinander die folgenden Krystallisationen ab:

Fraktion 1.

0,9 g feines Krystallmehl von süßem Geschmack, das sich im zugeschmolzenen Röhrchen bei 233° zersetzt. Natürliches Asparagin zersetzt sich, in gleicher Weise erhitzt, bei 235°.

In wässeriger Lösung $[\alpha]_D = +4,3°$; die Drehung des natürlichen Asparagins beträgt $[\alpha]_D = -5,40°$.

Fraktion 2.

6,3 g Substanz vom Zersetzungspunkt 235°, gleichfalls süß schmeckend. Das Drehungsvermögen: $[\alpha]_D = +5{,}40°$ ist also genau gleich, aber entgegengesetzt, wie das des natürlichen Asparagins.

Bei langsamer Krystallisation aus Wasser wurden prachtvolle, wohl ausgebildete Krystalle erhalten, die gleichzeitig mit Krystallen von l-Asparagin an Herrn Geh. Rat Prof. Dr. Hintze in Breslau zur krystallographischen Vergleichung geschickt wurden. Wie mir dieser mitteilte, zeichnen sich die Krystalle der beiden Asparagine durch Spiegelbildlichkeit und Gleichheit der Krystallwinkel aus.

Vergleichende Bestimmung der Löslichkeit der beiden Asparagine in Wasser bei 20°.

Durch einen Vorversuch wurde festgestellt, daß das krystallisierte Asparagin, das bekanntlich ein Molekül Wasser enthält, beim Erhitzen auf dem Dampfbad sein Krystallwasser quantitativ abgibt.

0,3438 g wasserhaltiges Asparagin wurden in wässeriger Lösung auf dem Dampfbad eingedampft. Nach $2^1/_2$ stündigem Erhitzen wog der Rückstand 0,3029 g und blieb auch nach weiterem Erhitzen im Gewicht konstant.

Ber. f. $C_4H_3H_8N_2 + H_2O$		Gef.
H_2O	12,00	11,90

Nunmehr wurden je 1 g der feingepulverten d- bzw. l-Asparaginkrystalle mit je 30 ccm Wasser in je einem Schüttelzylinder während 3 Stunden geschüttelt. Die Lösungen, deren Temperatur 20° betrug, wurden von dem Ungelösten abfiltriert und von jeder Lösung 15 ccm eingedampft und die $2^1/_2$ Stunden erhitzten Rückstände nach dem Erkalten gewogen.

15 ccm der bei 20° gesättigten d-Asparaginlösung hinterließen 0,2643 g wasserfreies d-Asparagin.

15 ccm der bei 20° gesättigten l-Asparaginlösung hinterließen 0,2639 g wasserfreies l-Asparagin

oder 100 ccm der bei 20° gesättigten Lösung

von d-Asparagin enthalten 1,76 g
" l- " " 1,76 "

Die Angaben von Piutti und Pringsheim von der verschiedenen Löslichkeit von d- und l-Asparagin trifft also für die Temperatur von 20° nicht zu. Vielmehr zeigen die spiegelbildlichen Antipoden bei dieser Temperatur dem zweiten Identitätssatz folgend genau die gleiche Löslichkeit.

Fraktion 3.

11,9 g Substanz, Zersetzungspunkt im geschlossenen Röhrchen bei 217°, in wässeriger Lösung $[\alpha]_D = -0{,}86°$.

Während die 2. Fraktion aus höchst drehendem Antiasparagin bestand, stellt die 3. Fraktion ein Antipodengemisch mit einem geringen Überschuß von natürlichem Asparagin vor.

Dieser Umstand ließ vermuten, daß das molekulare Gemisch beider Asparagine leichter löslich ist, als die einzelnen Antipoden, wie einer der folgenden Versuche beweist. Die weitere Fraktionierung dieser 3. Krystallisation wird weiter unten beschrieben.

Mutterlauge der dritten Fraktion.

Bei weiterem Einengen der Mutterlauge von Fraktion 3 ist eine krystallinische Abscheidung nicht mehr zu erzielen gewesen.

Bei vollständigem Eindampfen erhält man einen honigähnlichen Syrup, der in kleinen Portionen getrocknet, zwar in eine feste, amorphe, gummiartige Masse übergeht, die aber nicht gewichtskonstant zu erhalten ist.

Da es bisher nicht gelang, aus dieser Substanz krystallinische, für die Analyse geeignete Salze oder Derivate herzustellen, so begnügten wir uns zunächst mit dem Nachweis, daß sie beim Erhitzen mit Salzsäure Asparaginsäure liefert, die bei der Stickstoffbestimmung ergab:

0, 1072 g gaben 10 ccm feuchten N bei 762 mm und 16°

Ber. f. $C_4H_7O_4N$	Gef.
N 10,53%	10,85%

und durch ihr Kupfersalz charakterisiert wurde.

Die salzsaure Lösung (3 HCl : 1 Asps.) ergab

$$[\alpha]_D = +22{,}2^0.$$

Durch die Bildung dieser amorphen Substanz, die in großer Menge entsteht, wird die Ausbeute an d-Asparagin sehr beeinträchtigt.

Verhalten eines Gemisches gleicher Teile von Asparagin und Antiasparagin.

Piutti gibt an, daß die beiden Asparagine eine einheitlich krystallisierende Racemverbindung zu geben nicht imstande sind, eine Angabe, die durch unsere Beobachtungen bestätigt wird. Dementsprechend war auch beim Vermischen gleichprozentiger Lösungen von d- und l-Asparagin eine Wärmetönung

nicht festzustellen. Dagegen ließ sich die vorher vermutete größere Löslichkeit des molekularen Antipodengemisches bestätigen.

Löslichkeits- und Zersetzungspunktbestimmung des molekularen Gemisches von d- und l-Asparagin.

Ein fein gepulvertes Gemisch von 1 g d- und 1 g l-Asparagin wurde mit 20 ccm Wasser geschüttelt. Die Temperatur betrug 19,5°. Nach 3 Stunden wurde von ungelöstem Asparagin filtriert und 15 ccm der Lösung eingedampft und bis zum Verlust des Krystallwassers getrocknet. Rückstand betrug 0,5511 g Substanz.

Danach enthalten 100 ccm der kalt gesättigten Lösung des molekularen Antipodengemisches 3,67 g wasserfreies d-l-Asparagin, also mehr als doppelt soviel, als die entsprechenden Lösungen der einzelnen Antipoden, die nur je 1,76 g enthalten.

Auch der Zersetzungspunkt des molekularen Antipodengemisches wurde um 10° tiefer als bei den Antipoden, nämlich bei 225° statt 235° gefunden. Bei nicht molekularen Gemischen wurden noch tiefer liegende Zersetzungspunkte beobachtet.

Trennungsversuche mit dem molekularen Antipodengemisch.

1. Bei gewöhnlicher Temperatur.

Da die Löslichkeitsbestimmungen der beiden spiegelbildlichen Asparagine bei 20° genau gleiche Löslichkeit ergeben hatten, so war bei dieser Temperatur eine Trennung des Gemisches zugunsten der einen aktiven Komponente von vornherein schon ausgeschlossen.

Trotzdem erbrachten wir, im Anschluß an die Löslichkeitsbestimmung des molekularen Antipodengemisches, dadurch den Beweis, daß wir feststellten, daß weder die bei dem Löslichkeitsversuch in Lösung gegangene, noch die ungelöst gebliebene Menge Asparagin, selbst nicht in salzsaurer Lösung, optische Aktivität zeigte.

2. Trennung von dl-Asparagin nach vorherigem Erhitzen der Lösung.

Eine Lösung von 1,5 g d- und 1,5 g l-Asparagin wurde in 100 ccm Wasser gelöst. 5 ccm dieser Lösung, mit der molekularen Menge Normalsalzsäure versetzt, war, in einem 20 cm-Rohr von ca. 4 ccm Inhalt polarisiert, inaktiv.

Da nach Becker (B. 14, 1030) das freie l-Asparagin ein $[\alpha]_D = -5{,}42^\circ$ zeigt, während das l-Asparagin in der molekularen Menge Salzsäure das zwar entgegengesetzte, aber viel höhere Drehungsvermögen $[\alpha]_D = +26{,}4^\circ$ besitzt, wurden bei den folgenden Versuchen vielfach die Fraktionen des Asparagingemisches, in der molekularen Menge Salzsäure gelöst, polarisiert. Dabei muß bedacht werden, daß eine + Drehung in salzsaurer Lösung einen Überschuß von l-Asparagin, eine — Drehung dagegen einen Überschuß von d-Asparagin anzeigt.

Die nach Wegnahme der 5 ccm verbleibende Lösung des inaktiven, molekularen Antipodengemisches wurde nunmehr 20 Minuten gekocht, wobei sich ihr Volumen auf ca. 40 ccm verringerte. Nach 3 Tagen hatten sich einige große, teilweise sehr gut ausgebildetete Krystalle von dem Gewicht 0,8 g abgeschieden. Ihre salzsaure Lösung (1 : 1) drehte im 20 cm-Rohr $\alpha = +0{,}67^\circ$ entsprechend $[\alpha]_D = +5{,}2^\circ$.

Aus der eingeengten Mutterlauge schieden sich nach 20 Stunden weitere 0,5 g ab, die in salzsaurer Lösung (1 : 1) die Drehung:

$$[\alpha]_D = -9{,}6^\circ$$

ergaben.

Nach weiterem Eindampfen konnten noch 0,8 g Krystalle gewonnen werden, deren salzsaure Lösung (1 : 1)

$$[\alpha]_D = +0{,}9^\circ$$

drehte.

Die Mutterlauge davon, die noch ca. 0,6 g enthielt, erwies sich in salzsaurer Lösung inaktiv.

Während also das molekulare Antipodengemisch bei gewöhnlicher Temperatur nicht in aktive Fraktionen zerfällt, findet nach vorhergehendem Erhitzen der Lösung stets Abscheidung aktiver Krystallisationen statt, und zwar enthielt die erste Abscheidung einen Überschuß an natürlichem Asparagin, die zweite dagegen einen Überschuß des Antiasparagins, während in der dritten Abscheidung fast und der Mutterlauge völlig inaktives Asparagin vorlag.

Diese Beobachtungen werden nur verständlich, wenn man den Ausführungen in der Einleitung entsprechend annimmt, daß die in der Kälte gleich löslichen Antipoden durch das Erhitzen in verschiedener Weise beeinflußt werden unter Bildung verschieden löslicher, relativ isomerer Modifikationen, die sich ihrer verschiedenen Löslichkeit entsprechend hintereinander ababscheiden.

Weitere Trennung der 3. Fraktion im Gewicht von 11,9 g und von dem Drehwerte $[\alpha]_D = -0{,}86^\circ$.

Um zu zeigen, daß man nach dem beschriebenen Verfahren jedwedes Mischungsverhältnis der Asparaginantipoden

unter Abscheidung höchst drehenden Asparagins trennen kann, sei die weitere Trennung der dritten Fraktion (11,9 g) hier angeführt.

Nach dem Drehwert $[\alpha]_D = -0{,}86^0$ liegt hier ein Antipodengemisch vor, das einen geringen Überschuß des natürlichen l-Asparagins enthält.

Nach dem Erhitzen der Lösung schieden sich 5,8 g einer Mischung ab, in der das l-Asparagin vorherrschte.

Drehung der salzsauren Lösung (1 : 1)

$$[\alpha]_D = +13{,}1^0.$$

Die 5,8 g, nochmals in derselben Weise hehandelt, gaben:

1. Fraktion 3,1 g $[\alpha]_D = +13{,}5^0$ in salzsaurer Lösung (1 : 1)
2. " 0,5 g $[\alpha]_D = -23{,}9^0$ " " " (1 : 1)

Da die Drehung des gewöhnlichen l-Asparagins in salzsaurer Lösung 1 : 1 $[\alpha]_D = +26{,}4^0$ beträgt, so liegt hier fast einheitliches Antiasparagin vor, das sich aus dem Gemisch mit überschüssigem l-Asparagin abscheiden ließ.

3. Fraktion 1,4 g $[\alpha]_D = 0{,}1^0$ in salzsaurer Lösung (1 : 1) stellt danach molekulares Antipodengemisch vor.

Fraktionierung der bei dem zweiten Versuch erhaltenen Mutterlauge.

Die nach Entfernung des nach 16 stündigem Erhitzen mit Wasser unverändert gebliebenen l-Asparagins erhaltenen Mutterlaugen, die entstandenes Antiasparagin enthalten mußten, wurden, wie bei dem 1. Versuch, durch fraktioniertes Einengen auf dem Dampfbad in die folgenden Fraktionen zerlegt:

Fraktion 1.

5,3 g Substanz schmeckt süß und gibt in salzsaurer Lösung (1 : 1) $[\alpha]_D = -19{,}3^0$, besteht somit zum weitaus größten Teil aus Antiasparagin.

Nach dem erneuten Erhitzen dieser Fraktion in wässeriger Lösung schieden sich beim Erkalten 3,3 g Substanz aus, die nach dem süßen Geschmack und der Drehung in salzsaurer Lösung (1 : 1)

$$[\alpha]_D = -26{,}1^0 \text{ (statt } -26{,}4^0\text{)}$$

aus einheitlichem rechtsdrehendem Antiasparagin bestand.

Bei dieser erneuten Trennung wurde durch das Erhitzen das l-Asparagin in die löslichere Modifikation übergeführt.

Fraktion 2.

7,8 g dreht in salzsaurer Lösung 1 : 1

$$[\alpha]_D = +5{,}1^0.$$

Fraktion 3.

7,7 g dreht in salzsaurer Lösung 1 : 1

$[\alpha]_D = + 3{,}4^0$.

Fraktion 4.

8,8 g dreht in salzsaurer Lösung 1 : 1

$[\alpha]_D = + 3{,}4^0$.

Fraktion 5.

1,0 g dreht in salzsaurer Lösung 1 : 1

$[\alpha]_D = - 2{,}9^0$,

enthält also wieder Antiasparagin im Überschuß.

Eine weitere krystallinische Abscheidung war nicht mehr zu erhalten, die Mutterlauge enthielt nur mehr die amorphe Substanz.

Um zu zeigen, daß man durch unsere Methode aus den Asparagingemischen auch das l-Asparagin abscheiden kann, sei noch der folgende Versuch mitgeteilt.

15 g der 3. und 4. Fraktion wurden in wässeriger Lösung erhitzt. Nach dem Erkalten schieden sich 1,1 g Asparagin ab, dessen salzsaure Lösung 1 : 1 $[\alpha]_D = + 24{,}8$ statt $+ 26{,}8^0$ drehte, mithin aus fast einheitlichem l-Asparagin bestand.

Da die weiteren Krystallisationen aus heißem Wasser keine neuen Gesichtspunkte mehr ergaben, so kann auf ihre Mitteilung verzichtet werden. Alle Versuche bestätigen, daß man jedwede Mischung der beiden Asparagine durch die Methode der Krystallisation aus vorher erhitzter Lösung trennen kann und daß der Theorie entsprechend bald die l-, bald die d-Modifikation durch das Erhitzen und die dadurch bewirkte Überführung in nicht mehr spiegelbildliche Modifikationen, schwerer resp. leichter löslich wird, ohne daß man in der Lage ist, das Resultat vorherzusagen.

Daß die bei 20° identischen Asparaginantipoden durch das Erhitzen verändert werden und in Modifikationen verschiedener Löslichkeit übergehen, ergibt sich aus den nachstehenden Versuchen.

Beweis für den Übergang des l-Asparagins durch Erhitzen in eine bei 20° löslichere Modifikation.

Für diesen Versuch wurde ein käufliches l-Asparagin verwendet, das in salzsaurer Lösung 1 : 1 die Drehung

$$[\alpha]_D = + 23{,}4 \text{ statt } + 26{,}8^0$$

zeigte und somit einen geringen Anteil von Antiasparagin enthielt. Dementsprechend war auch das Präparat in Wasser von 20° etwas leichter löslich. 100 ccm der bei 20° gesättigten Lösung enthielten 1,89 g wasserfreies Asparagin, während von dem höchst drehenden d- bzw. l-Asparagin bei 20° in 100 ccm Wasser nur 1,76 g gelöst sind.

Nach den Ergebnissen bei den Trennungsversuchen war zu erwarten, daß eine in der Hitze hergestellte Lösung dieses Asparagins bei darauffolgender Abkühlung auf 20° ein anderes Löslichkeitsverhältnis zeigte, wie vor dem Erhitzen.

5 g des vorher untersuchten Asparagins wurden in der Hitze in 125 ccm Wasser gelöst und die Lösung darauf 20 Minuten im Kochen erhalten und sodann rasch auf 20° abgekühlt. Selbst nach 20 minutigem Schütteln war eine Abscheidung des gelösten Asparagins nicht erfolgt.

15 ccm der Lösung enthielten 0,7220 g oder 100 ccm der Lösung enthalten 4,81 g wasserfreies Asparagin, statt 1,89 g vor dem Erhitzen.

Ein Teil dieser Lösung wurde nun mit einem Asparaginkrystall geimpft, worauf eine feinpulvrige Abscheidung unter Ansteigen der Temperatur auf 21° erfolgte.

Da sich nach 20 minutigem Schütteln die Ausscheidung nicht mehr vermehrte, wurde filtriert und 15 ccm der Lösung eingedampft. Der Rückstand betrug immer noch 0,4738 g, wonach 100 ccm der nach dem Impfen und der darauf erfolgten Krystallisation erhaltenen Lösung noch 3,16 g Asparagin enthielten, also fast doppelt soviel, als die bei 20° gesättigte Lösung.

Nach 24 stündigem Stehen waren in 100 ccm der filtrierten Lösung noch 2,05 g statt 1,89 g enthalten, und erst nach 48 stündigem Stehen hatten 100 ccm der filtrierten Lösung wieder den vorher bei 20° festgestellten Gehalt von 1,89 g erreicht[1]).

Danach gebrauchte die durch Erhitzen gebildete leichter lösliche Modifikation des l-Asparagins bei diesem Versuche 48 Stunden, um sich in die ursprünglich vorhandene, am schwersten lösliche Modifikation zurückzuverwandeln.

Daß eine solche leichter lösliche Modifikation des Asparagins, die sich bisher allerdings noch nicht als solche hat abscheiden und charakterisieren lassen, in der erhitzten Lösung angenommen werden muß, ergibt sich daraus, daß auch die geimpfte Lösung nach der Abscheidung eines Teils des Asparagins noch fast die doppelte Menge Asparagin enthielt.

[1]) Ich halte es für sehr wahrscheinlich, daß die Bildung anscheinend übersättigter Lösungen bei organischen Substanzen auf die Bildung leichter löslicher, relativ isomerer Modifikationen zurückzuführen ist.

Ein weiterer Beweis für diese Annahme ergibt sich aus den Beobachtungen über verschieden gefärbte und verschieden lösliche Kupfersalze des Asparagins.

Gewinnung verschieden gefärbter und verschieden löslicher Kupfersalze des Asparagins.

Erhitzt man eine wässerige Lösung von käuflichem Asparagin mit etwas mehr als der berechneten Menge Kupfercarbonat, so bildet sich eine dunkelblaue violettstichige Lösung. Nach Filtration in der Hitze scheidet sich aus der erkalteten Lösung ein krystallinisches dunkelviolettblaues Kupfersalz ab, das sich beim Trocknen wasserfrei erweist und bei der Analyse die folgenden Werte gibt:

1. 0,2032 g gaben 0,2192 g CO_2 und 0,0818 g H_2O.
2. 0,1746 g gaben bei 22° und 754 mm 26,8 ccm feuchten Stickstoff.
3. 0,2398 g gaben 0,0592 g CuO.
4. 0,2642 g gaben 0,0650 g CuO.

Berechnet für	Gef.			
$(C_4H_7N_2O_3)_2Cu$	1	2	3	4
C 29,48	29,42	—	—	—
H 4,30	4,50	—	—	—
N 17,20	—	17,16	—	—
Cu 19,53	—	—	19,72	19,66

Dampft man die Mutterlauge des dunkelblauen Kupfersalzes ein, so erhält man größere oder geringere Mengen eines hellila Kupfersalzes.

Dieses hellila Kupfersalz erhält man leicht in größerer Menge, wenn man die 16 Stunden erhitzte Asparaginlösung nach Entfernung der Hauptmenge des unverändert gebliebenen Asparagins mit Kupfercarbonat kocht und heiß filtriert. Es scheidet sich erst nach längerem Stehen oder Abkühlen ab.

Das hell- und dunkelblaue Kupfersalz, nebeneinander betrachtet, lassen keinen Zweifel an ihrer Verschiedenheit zu.

Die Analysen bestätigen, daß beide Salze miteinander isomer sind.

Das hellblaue Salz ist gleichfalls wasserfrei.

1. 0,2083 g gaben 0,2258 g CO_2 und 0,0831 g H_2O.
2. 0,1647 g gaben bei 18° und 760 mm 24,2 ccm f. N.
3. 0,2980 g gaben 0,0723 g CuO.

Berechnet für $(C_4H_7N_2O_3)_2Cu$	Gef. 1	2	3
C 29,48	29,56	—	—
H 4,30	4,96	—	—
N 17,20	—	16,89	—
Cu 19,53	—	—	19,39

Das Vorliegen zweier isomerer Kupfersalze, die sich nur von relativ isomeren Asparaginmodifikationen ableiten können, ergibt sich nicht nur aus der verschiedenen Farbe der Salze, sondern wird auch durch ihre verschiedene Löslichkeit bestätigt.

Die Löslichkeitsversuche wurden übereinstimmend in der folgenden Weise vorgenommen.

Man erhitzt ca. 1 g des zu untersuchenden Kupfersalzes mit 100 ccm Wasser etwa 20 Minuten zum Kochen, kühlt ab und läßt bis zum nächsten Tag stehen, filtriert sodann von ungelöstem und etwa wiederabgeschiedenem Salz, dampft 80 bis 90 ccm des Filtrats in einer gewogenen Schale ein, wägt den Rückstand nach halbstündigem Trocknen bei 110° und berechnet, in wieviel Kubikzentimeter der Lösung 1 g Salz enthalten ist.

Von dem aus gewöhnlichem Asparagin erhaltenen dunkelblauen Kupfersalz befanden sich nach der ersten Extraktion mit siedendem Wasser

1. 1 g in 4258 ccm Lösung.

Von dem hellblauen Kupfersalz aus dem mit Wasser erhitzten Asparagin dagegen befanden sich nach der ersten Extraktion:

2. 1 g in 650 ccm Lösung.

Der große Unterschied in der Löslichkeit entspricht also dem zuerst beobachteten Unterschied in der Farbe der Kupfersalze.

Das bei Löslichkeitsversuch 1 ungelöst gebliebene dunkelblaue Kupfersalz gab bei der erneuten Extraktion eine Lösung, die

3. 1 g Salz in 4579 ccm enthielt.

Die bei der Darstellung von dunkelblauem Kupfersalz erhaltene Mutterlauge hinterließ beim Eindampfen hell- und dunkelblaues Salz.

Die erstmalige Extraktion dieses Gemisches ergab die Löslichkeit:

4. 1 g in 425 ccm Lösung.

Die nochmalige Extraktion des Rückstandes:

5. 1 g in 2148 ccm Lösung.

Das hellblaue Salz, das bei Löslichkeitsversuch 2 zurückgeblieben war, gab bei den weiteren Extraktionen die folgenden Löslichkeitsverhältnisse:

6. 1 g in 2047 ccm Lösung.
7. 1 „ „ 1911 „ „
8. 1 „ „ 3879 „ „
9. 1 „ „ 4286 „ „

Eine weitere Serie von Löslichkeitsversuchen mit einem anderen hellblauen Salz zeigte bei aufeinanderfolgenden Extraktionen die folgenden Löslichkeiten:

10. 1 g in 556 ccm Lösung.
11. 1 „ „ 1684 „ „
12. 1 „ „ 2890 „ „
13. 1 „ „ 4036 „ „
14. 1 „ „ 3874 „ „

Die Löslichkeiten des hellblauen und dunkelblauen Kupfersalzes schwanken also von

1 g in 452 ccm Lösung
bis 1 „ „ 4579 „ „

Ob bei den aufeinanderfolgenden Extraktionen lediglich eine Trennung stattfindet oder ob sich dabei auch Umwandlungen vollziehen, läßt sich nicht sicher entscheiden. Der Umstand, daß die Löslichkeiten des hellblauen Salzes nicht gleichmäßig abnehmen, könnte auf Konfigurationsschwankungen während des Erhitzens zurückgeführt werden.

Bemerkenswert ist es, daß die bei der fortgesetzten Extraktion des hellblauen Kupfersalzes erhaltenen Rückstände nicht nur schwerer löslich werden, sondern auch dunkler gefärbt erscheinen.

Wenn das dunkelblaue Kupfersalz der stabilsten α-Modifikationen entspricht, muß dem hellblauen Salz eine der durch Drehung um die $C—C$-Achse entstandenen labilen β- oder γ-Modifikation zugrunde liegen.

Umwandlung des hellblauen in das dunkelblaue Salz über das α-Asparagin.

Ein Teil des hellblauen Salzes wurde durch Schwefelwasserstoff entkupfert, das Filtrat vom Schwefelkupfer eingedampft und der Rückstand langsam aus Wasser krystallisieren gelassen.

Es schieden sich Krystalle ab, deren Form mit der des α-Asparagins identisch war.

Bei der Rückverwandlung in das Kupfersalz wurde das dunkelblaue Kupfersalz erhalten. Aus der Mutterlauge schied sich ein sehr kleiner Anteil hellblauen Salzes ab.

Kupfersalz des bei 16stündigem Erhitzen von käuflichem Asparagin mit Wasser entstehenden amorphen Körpers.

Der bereits obenerwähnte amorphe Körper, der sich nach 16stündigem Erhitzen von Asparagin in den letzten Mutterlaugen vorfindet und aus dem sich durch Zusetzung mit Salzsäure Asparaginsäure bildet, gibt in wässeriger Lösung mit Kupfercarbonat gekocht eine dunkelblaue Lösung, aus der sich beim Erkalten nichts abscheidet. Beim Eindampfen hinterbleibt das Kupfersalz dieser amorphen Substanz als rein blauer, gleichfalls amorpher Rückstand, der in Wasser sehr leicht löslich ist und sich in keiner Weise krystallinisch erhalten läßt.

Nach dem Eindampfen der entkupferten Lösung erhält man die amorphe Substanz ohne Veränderung zurück.

Eine Stickstoffbestimmung der getrockneten amorphen Substanz lieferte 19,2 % N.

Asparagin verlangt 21,21 % N, Asparaginsäure 10,52 % N.

Da beim Erhitzen des Asparagins mit Wasser, wie wir uns überzeugten, nur Spuren von Ammoniak frei wurden und der Körper sich auch verschieden verhält von saurem asparaginsaurem Ammoniak, so liegt die Vermutung nahe, daß er eine amorphe Asparaginmodifikation vorstellt, entspechend der amorphen Metaweinsäure.

Eine Lösung von 0,2 g Substanz in 20 ccm Wasser gab im 2-dm-Rohr die Drehung:

$$[\alpha]_D = -7,6^\circ.$$

0,2 g derselben Substanz in 18 ccm Wasser und 2 ccm verdünnter Salzsäure gelöst, zeigte die Drehung:

$$[\alpha]_D = -4,9^\circ.$$

Zur Aufklärung der Natur dieser Substanz sollen noch weitere Versuche angestellt werden.

Zusammenfassung der bei der Untersuchung der Asparagine erhaltenen Resultate.

Die Angabe von Piutti, daß sich ein Gemisch von d- und l-Asparagin durch fraktionierte Krystallisation des Gemisches aus heißem Wasser trennen läßt, konnten wir bestätigen. Die von demselben Autor gefolgerte leichtere Löslichkeit des Antiasparagins trifft insofern nicht zu, als das gut krystallisierte Antiasparagin, das krystallographisch das genaue Spiegelbild zu

dem gewöhnlichen l-Asparagin vorstellt, bei 20° die gleiche Löslichkeit besitzt, wie das l-Asparagin.

Dagegen konnten wir feststellen, daß das molekulare Antipodengemisch, d, l-Asparagin über doppelt so löslich ist, als die beiden Antipoden für sich.

Daß sich aus einem Gemisch der beiden Asparagine, in dem die eine Komponente vorherrscht, auf Grund der Löslichkeitsdifferenz von molekularem Antipodengemisch und des einzelnen Antipoden, die im Überschuß vorhandene Komponente abtrennen läßt, ist daher leicht zu verstehen.

Die Trennung eines gleichmolekularen Antipodengemisches durch fraktionierte Krystallisation aus heißem Wasser bedarf dagegen einer anderen Erklärung.

Die Angabe Piuttis, daß die beiden Asparagine eine Racemverbindung zu geben nicht fähig sind, konnten wir gleichfalls bestätigen.

Man hat danach anzunehmen, daß auch in der Lösung des d, l-Asparagins die beiden Antipoden unabhängig nebeneinander vorhanden sind.

Die Gleichheit der Löslichkeit der beiden Antipoden bei 20° läßt, wie wir feststellten, bei dieser Temperatur eine Trennung nicht zu. Dagegen scheiden sich nach vorhergehendem Erhitzen der Lösung des d, l-Asparagins beim Abkühlen hintereinander entgegengesetzt drehende Gemische ab, die, wie die Versuche zeigen, leicht weiter bis zu den höchst drehenden Antipoden getrennt werden können.

Diese Trennbarkeit des d, l-Asparagins nach vorherigem Erhitzen der Lösung muß gleichfalls auf eine Löslichkeitsdifferenz der Antipoden unter den betreffenden Versuchsbedingungen zurückgeführt werden, die aber erst, den Ausführungen in der Einleitung entsprechend, durch die geradlinigen Wärmestöße beim Erhitzen erworben wird.

Daß aktives Asparagin durch Erhitzen in Lösung tatsächlich in eine labile löslichere Modifikation überführbar ist, ergibt sich aus den Löslichkeitsversuchen mit der vorher erhitzten l-Asparaginlösung nach dem Abkühlen auf 20°. Es schied sich dabei der aus der Löslichkeit bei 20° berechnete Überschuß nicht ab, und selbst nach der durch Impfen hervorgerufenen Abscheidung von Asparagin blieb noch fast doppelt so viel

Asparagin in Lösung, als seiner Löslichkeit ohne vorheriges Erhitzen bei 20° entspricht.

Ferner ist für die Bildung zweier in der Löslichkeit verschiedener Asparaginmodifikationen in der erhitzten Lösung beweisend die Gewinnung zweier isomerer, in Farbe und Löslichkeit verschiedener Kupfersalze.

Wahrscheinlich verwandelt die zugeführte Wärme von dem d, l-Asparagin nur die eine Komponente in die labile, leichter lösliche β-Modifikation, während die andere Komponente schwieriger in die γ-Modifikation übergeht und deshalb vorzugsweise in der α-Form bestehen bleibt.

Der Theorie entsprechend können die d- und l-Komponenten je nach der Richtung der geradlinig wirkenden Kräfte entweder im Sinne des Uhrzeigers oder umgekehrt um die $C-C$-Achse gedreht gedacht werden, was zur Folge haben muß, daß in dem einen Falle die d-Modifikation, im anderen Falle die l-Modifikation in der schwerer löslichen α-Form zur Abscheidung gelangt, in Übereinstimmung mit den Versuchsergebnissen.

Unser weiteres Bestreben wird es sein, zu versuchen, die leichter lösliche Modifikation durch die Verschiedenheit in der Form zu charakterisieren. Krystallisationen verschiedenen Aussehens konnten wir öfter beobachten.

Die mitgeteilte Trennung des auch künstlich darstellbaren d, l-Asparagins auf dem beschriebenen Weg stellt das erste Beispiel einer Trennung vor, bei der eine prinzipiell neue Methode zur Verwendung kommt. Die Ausführung dieser Methode macht weder die Anwendung einer asymmetrisch wirkenden Kraft noch die einer bereits einseitig asymmetrischer Verbindung nötig.

Wie durch die Synthese des Harnstoffs von Wöhler im Jahre 1828 der Glaube, daß die künstliche Darstellung der in der Natur vorkommenden organischen Verbindungen außerhalb des lebenden Organismus unmöglich sei, zerstört wurde, liefert die Tatsache, daß auf diesem neuen Wege die Trennung bei dem d, l-Asparagin gelungen ist, den Beweis für die Möglichkeit der künstlichen Darstellung eines optisch aktiven Körpers aus inaktivem Ausgangsmaterial und widerlegt die so lange für richtig gehaltene Meinung Pasteurs, daß nur die lebende Pflanze mit Hilfe einer ihr allein zu Gebote stehenden, asymmetrisch wirkenden Kraft zur Bildung aktiver Körper befähigt sei.

Da sich, wie eingangs erwähnt, im Pflanzen- und Tierorganismus eine Reihe von Körpern mit asymmetrischen Kohlenstoffatomen in ihrer Racemform auffinden ließen, so zweifle ich nicht, daß auch im lebenden Organismus ursprünglich die beiden Antipoden zu gleichen Teilen gebildet wurden, die aber durch das Licht oder die Wärme in relativ isomere Modifikationen von verschiedenen Eigenschaften verwandelt, von der Pflanze verschieden verarbeitet wurden, wodurch dann aktive Moleküle in der Pflanze in Erscheinung treten mußten.

Ist aber erst einmal aktive Substanz in der Pflanze vorhanden, so ist es nach der von Emil Fischer[1]) mitgeteilten Vorstellung von der asymmetrischen Synthese leicht verständlich, wie von der ersten aktiven Substanz aus die Synthese in der Pflanze asymmetrisch weiter verläuft.

Wie wir in unserer Arbeit[2]): „Über die induzierte molekulare Asymmetrie bei ungesättigten Verbindungen" gezeigt haben, vermögen sich ungesättigte Gruppen in Verbindung mit asymmetrischen Komplexen, durch diese induziert, in einer molekular asymmetrischen Form einzustellen, wie die starke Erhöhung der Aktivität der gebildeten Kombination ergibt.

Durch Abtrennung der molekular asymmetrisch eingestellten ungesättigten Verbindung von dem die Induktion bewirkenden Teil geht bei der induzierten ungesättigten Verbindung die molekulare Asymmetrie sehr schnell wieder verloren, so daß nur sehr geringe Werte der induzierten molekularen Asymmetrie durch die Polarisation sicher nachweisbar sind.

Bei der Bildung asymmetrischer Kohlenstoffatome durch Addition an die doppelte Bindung der ungesättigten Verbindung, solange diese noch mit dem aktiven Molekül kombiniert ist, und darauffolgender Zersetzung erhält man aber die neugebildete Verbindung mit den asymmetrischen Kohlenstoffatomen in aktiver Form, in dem von uns beschriebenen Falle sogar entgegengesetzt aktiv als die induzierende Substanz.

Durch die Induktion aktiver Gruppen auf ungesättigte Gruppen des gleichen Moleküls findet das Wesen der asymmetrischen Synthese eine plausible Erklärung.

---

[1]) Ber. d. Deutsch. Chem. Ges. 37, 4696, 1904.

[2]) Diese Zeitschrift 43, 445, 1912.

Dem im Pflanzenreich so viel verbreiteten Asparagin selbst, das in seiner d,l-Form so leicht getrennt werden kann, mag vielleicht die erste Entstehung optisch-aktiver Verbindungen in der Pflanze zu verdanken sein.

Über die Trennungsversuche bei anderen Racemverbindungen.

Gemeinsam mit G. Hilgendorff.

Die Versuche bei dem d,l-Asparagin haben ergeben, daß die beiden Komponenten, die bei gewöhnlicher Temperatur gleich löslich sind, bei Temperatursteigerung verschieden löslich werden. Die so erworbene Löslichkeitsdifferenz erhält sich auch bei gewöhnlicher Temperatur für einige Zeit und ermöglicht die aufeinanderfolgende Ausscheidung der entgegengesetzt optisch-aktiven Komponenten.

Umfangreiche Versuche mit anderen Racemverbindungen, z. B. Zimtsäuredibromid und anderen inaktiven Verbindungen mit 1 oder 2 asymmetrischen Kohlenstoffatomen, haben ergeben, daß bei diesen Racemverbindungen weder bei ihrer Darstellung noch bei Trennungsversuchen bei Abwesenheit bereits aktiver Verbindungen auch nur eine Spur einer der aktiven Komponenten im Überschuß zu erhalten ist.

Daraus folgt, daß bei dem Asparagin ein Spezialfall vorliegt und daß es nicht möglich sein wird, die beim Asparagin gangbare Methode bei allen Racemverbindungen mit Erfolg anzuwenden.

Trotzdem war ich der sicheren Überzeugung, daß die beim d,l-Asparagin angewandte spezielle Trennungsmethode nicht nur auf dieses allein beschränkt sei.

In erster Linie konnte man annehmen, daß nur bei solchen d,l-Verbindungen die Trennung möglich sei, bei denen die Komponenten durch Erhitzen in eine leichter lösliche, relativ isomere Modifikation von einiger Beständigkeit überführbar sind.

Wie bekannt, geht die Weinsäure nicht nur beim Erhitzen für sich, sondern auch in wässeriger Lösung in die bedeutend löslichere amorphe Modifikation, die Metaweinsäure, über, die man nach ihrem Verhalten und besonders nach ihrer Rückverwandelbarkeit in gewöhnliche Weinsäure nur als eine relativ isomere β-Modifikation der Weinsäure ansprechen kann.

Ich hielt es deshalb für nicht ausgeschlossen, daß, wenn man Traubensäure längere Zeit mit Wasser erhitzt, ein Teil der d- oder l-Weinsäure durch die gleichgerichteten Wärmestöße in die leichter lösliche Metasäure übergeht, während der Antipode unverändert bleibt. Alsdann konnte man eine partielle Trennung nach der Löslichkeit wie bei dem d,l-Asparagin auch bei der Traubensäure erwarten. Zur Prüfung dieser Möglichkeit haben wir eine große Reihe von Versuchen angestellt, indem wir Lösungen von Traubensäure lange Zeit erhitzten, dann bis zur Ausscheidung der schwerst löslichen Anteile eindampften, die abgeschiedenen Krystalle trennten und die Mutterlauge, die ev. gebildete aktive Metaweinsäure enthalten konnte, auf Aktivität prüften. Trotz mannigfacher Variationen in den Versuchsbedingungen gelang es in keinem Falle, auch nur eine Spur von Aktivität nachzuweisen.

Demnach verhält sich also die Traubensäure unter den gleichen Bedingungen durchaus abweichend von d,l-Asparagin. Aber auch in anderer Hinsicht zeigen sich zwischen beiden Substanzen tiefgreifende Unterschiede, die ich hier zusammenstelle:

Traubensäure.	d,l-Asparagin.
d- und l-Weinsäurelösungen zeigen bei der Vereinigung starke Wärmetönung, geben eine verschieden krystallisierende Racemverbindung. d,l-Weinsäure besitzt höheren Schmelzpunkt und viel geringere Löslichkeit als die Antipoden.	d- und l-Asparaginlösungen zeigen bei der Vereinigung keine Wärmetönung, geben überhaupt keine Racemverbindung. d,l-Asparagin zeigt tieferen Schmelzpunkt und ist über doppelt so löslich wie die Antipoden.

Wenn auch die gleiche Leitfähigkeit von Traubensäure und d- bzw. l-Weinsäure die Annahme stützt, daß in der Traubensäurelösung d- und l-Weinsäure getrennt vorhanden sind, so zeigt doch der Versuch von Pasteur, daß sich die d- und l-Weinsäure in der Lösung unter Abgabe von Wärme und unter darauffolgender Abscheidung der schwer löslichen Traubensäure vereinigen, daß die d- und l-Weinsäuremoleküle in der Traubensäurelösung nicht völlig unabhängig voneinander enthalten sein können, wie man dies bei dem d,l-Asparagin annehmen muß. Man mußte daher damit rechnen, daß in dem angeführten Unterschiede der Traubensäure dem d,l-Asparagin

gegenüber der Grund für die Untrennbarkeit der d,l-Weinsäure unter den Bedingungen, unter denen d,l-Asparagin trennbar ist, zu suchen ist.

Trennungsresultate bei dem traubensauren Ammoniak-Natriumsalz.

Nach diesen negativen Ergebnissen bei der Traubensäure selbst hoffte ich, eine der d,l-Asparagintrennung analoge Trennung bei dem traubensauren Ammoniak-Natriumsalz bewirken zu können, da dieses Salz unter 27^0 als Antipodengemisch von d- und l-Salz in Lösung vorhanden ist, wie das d,l-Asparagin. War es nun möglich, durch vorheriges Erhitzen die beiden Antipoden partiell in nicht mehr spiegelbildliche, verschieden lösliche Modifikationen umzuwandeln, so mußten die veränderten Antipoden sich ihrer verschiedenen Löslichkeit entsprechend hintereinander abscheiden.

Pasteur[1]) hatte zwar festgestellt, daß sich in jeder Epoche der Krystallisation immer genau gleiche Mengen des d- und l-Tartrats ausscheiden, da, wenn man zu einer beliebigen Zeit die ganze Krystallmasse herausnimmt und in Wasser löst, die Lösung und ebenso die Mutterlauge inaktiv ist. Er schließt daraus mit Recht, daß unter den von ihm gewählten Versuchsbedingungen die beiden Salze ganz übereinstimmende Löslichkeit besitzen.

Pasteur hat, um möglichst gut ausgebildete Krystalle zu erhalten, die Lösung in der Kälte verdunsten lassen, und es war daher sehr wohl möglich, durch vorheriges Erhitzen, entsprechend wie beim d,l-Asparagin, andere Resultate zu erhalten.

Die im folgenden beschriebenen Versuche bestätigen die Richtigkeit dieser Vermutung.

Versuch 1.

5,6 g Traubensäure wurden in einem Gemisch von 37 ccm 2,1%iger Ammoniakflüssigkeit und 33 ccm n-Natronlauge gelöst und die Lösung mit 70 ccm Wasser verdünnt. Sodann wurde die Lösung erhitzt und auf dem Dampfbad auf die Hälfte des Volumens eingedampft, abgekühlt und krystallisieren gelassen. Zuerst schieden sich 0,5 g eines Salzes ab, dessen Lösung inaktiv war. Nach 10 Tagen hatte sich eine derbe

---

[1]) Ann. chim. phys. [3] 24, 458.

Krystallkruste abgeschieden, die herausgenommen und abgetrocknet 1,6 g wog. Ihre Lösung in 10-cm-Rohr drehte $\alpha = -0{,}54^{\circ}$, woraus sich

$$[\alpha]_D = -5{,}0^{\circ}$$

berechnet unter Zugrundelegung der Formel $NaNH_4C_4H_4O_6 + 4H_2O$.

Ein aus d-Weinsäure dargestelltes, gut krystallisiertes Ammoniak-Natriumsalz ergab:

$$[\alpha]_D = +23{,}9^{\circ}.$$

Eine weitere, nach 40 Stunden gewonnene Krystallisation von 2,6 g drehte im 10-cm-Rohr $\alpha = +0{,}25^{\circ}$, entsprechend einem

$$[\alpha]_D = +1{,}9^{\circ}.$$

Die Mutterlauge mit dem Rest des Salzes gab auf 10 ccm aufgefüllt im 10-cm-Rohr nur mehr eine Drehung von

$$[\alpha]_D = +0{,}05^{\circ}.$$

Versuch 2.

5,6 g Traubensäure wurden in einem Gemisch von 37 ccm 2,1 %iger Ammoniakflüssigkeit und 33,3 ccm n-Natronlauge gelöst, die Lösung ohne weitere Verdünnung erhitzt und auf ca. 10 ccm eingedampft, abgekühlt und krystallisieren gelassen. Es schieden sich 6,0 g Salz, also beinahe die ganze Menge des gelösten Salzes ab, das in Wasser gelöst inaktiv war.

Nach dem Einengen der wiedervereinigten verdünnten Lösung schieden sich nach 20 Stunden 4 g Salz ab, dessen Lösung im 2-cm-Rohr $\alpha = -0{,}16$ drehte.

Nach nochmaliger Vereinigung der Lösungen und folgendem Einengen schieden sich, als erste Krystallisation, 2,6 g ab, die noch schwächer links drehte.

Erst bei der vierten Wiederholung des Versuchs wurden nach 20 Stunden 1,1 g Substanz in schönen Krystallen erhalten, deren Lösung im 10-cm-Rohr ein $\alpha = -0{,}31^{\circ}$ gab, was einem $[\alpha]_D = -2{,}8^{\circ}$ entspricht.

Nach weiteren 4 Stunden waren noch 1,2 g Krystalle abgeschieden, deren Lösung im 10-cm-Rohr $\alpha = +0{,}30$ drehte, einem $[\alpha]_D = +2{,}5$ entsprechend.

Die Mutterlauge, die noch einen großen Teil des Salzes gelöst enthält, erwies sich inaktiv.

Versuche 3 bis 5.

Bei Versuch 3 wurde, ausgehend von 4,2 g Traubensäure, als erste Krystallisation 3,6 g erhalten, deren Lösung im 10-cm-Rohr $\alpha = -0{,}19$, während die Mutterlauge $\alpha = +0{,}19$ drehte.

Versuch 4 gab eine erste Abscheidung, die $\alpha = -0{,}08$ (10 cm), während die Mutterlauge $\alpha = +0{,}14^{\circ}$ im 10-cm-Rohr zeigte.

Beim Versuch 5 wurden 11,2 g Traubensäure wie bei den vorhergehenden Versuchen bearbeitet:

1. Abscheidung nach 20 Stunden 3,1 g, im 10-cm-Rohr $\alpha = -0{,}17$, entsprechend $[\alpha]_D = -1{,}0^{\circ}$.

2. Abscheidung nach 20 Stunden 3,4 g, im 10-cm-Rohr $\alpha = + 0{,}38^{\circ}$, entsprechend $[\alpha]_D = + 1{,}7^{\circ}$.

Bei weiteren 2 Versuchen zeigten die ersten Krystallisationen ebenfalls deutliche, wenn auch geringe Linksdrehung.

Die linksdrehenden Krystallisationen von Versuch 1 und 2 wurden dem Verfahren nochmals unterworfen und dabei als erste Krystallisation 1,5° erhalten, deren Lösung im 10-cm-Rohr $\alpha = - 1{,}43^{\circ}$, entsprechend $]\alpha]_D = - 9{,}5^{\circ}$ drehte.

Ebenso wurden die rechtsdrehenden Lösungen von den Versuchen 1, 2, 3 und 4 vereinigt und nochmals getrennt. Erste Krystallisation von 1,1 g drehte im 10-cm-Rohr $\alpha = + 1{,}90^{\circ}$, entsprechend $[\alpha]_D = + 15{,}8^{\circ}$. Zweite Krystallisation 0,55 g, deren Lösung im 10-cm-Rohr $\alpha = 1{,}65^{\circ}$, entsprechend $[\alpha]_D = + 22{,}5^{\circ}$ drehte, demnach aus fast einheitlichem d-weinsaurem Salz, das $[\alpha]_D = + 23{,}9^{\circ}$ dreht, bestand.

Versuch 6.

Bei diesem Versuch, bei dem die Lösung des traubensauren Ammoniak-Natriumsalz genau wie bei Versuch 2 hergestellt worden war, wurde erhitzt und auf dem Dampfbad auf ca. 15 ccm eingedampft und abgekühlt. Zum Ersatz weggegangenen Ammoniaks wurde die Lösung mit einigen Tropfen Ammoniakflüssigkeit versetzt und zur Krystallisation gestellt. Während des dritten Tages hatten sich große, gut ausgebildete Krystalle abgeschieden, die nach Trennung von der Mutterlauge und Trocknen auf Filtrierpapier 1,9 g wogen. Ihre wässerige Lösung (Vol. 12,5 ccm) drehte, im 10-cm-Rohr $\alpha = + 2{,}65^{\circ}$, entsprechend

$$[\alpha]_D = + 17{,}5^{\circ}.$$

Aus der Mutterlauge schieden sich innerhalb der nächsten 3 Stunden weitere, gut ausgebildete Krystalle ab. Nach Trennung von der Mutterlauge und Trocknen auf Filtrierpapier betrug ihr Gewicht 1,05 g.

Ihre wässerige Lösung (Vol. 10 ccm) drehte, im 10-cm-Rohr $\alpha = - 2{,}10^{\circ}$, entsprechend $[\alpha]_D = - 20{,}8^{\circ}$.

Die letzte Mutterlauge hinterließ nach dem Verdunsten 5,2 g kleinkrystallinisches Salz, dessen wässerige Lösung (Vol. 20 ccm) im 10-cm-Rohr $- 0{,}62^{\circ}$ drehte, entsprechend $[\alpha]_D = - 2{,}4^{\circ}$.

Bei diesem Versuch schied sich also zuerst fast einheitliches Rechtssalz, darauf eine annähernd gleiche Menge fast höchstdrehenden Linkssalzes ab, während die Hauptmenge des Salzes mit geringer Links drehung in der Mutterlauge verblieb.

Betrachtungen über die Trennungsresultate bei dem traubensauren Ammoniak-Natriumsalz durch fraktionierte Krystallisation aus wässeriger Lösung.

Die erfolgreichen Versuche bei dem traubensauren Ammoniak-Natriumsalz beweisen, daß die bei dem d,l-Asparagin aufgefundene neue Trennungsmethode, die auf der durch vorheriges

Erhitzen erworbenen verschiedenen Löslichkeit der Antipoden beruht, nicht allein auf das d,l-Asparagin beschränkt ist.

Notwendig für das Gelingen dieser Trennungsmethode scheint zu sein, daß der zu trennende d,l-Körper ganz oder teilweise in Lösung als Antipodengemisch existieren kann.

Das d,l-Asparagin hat man unter allen Bedingungen als Antipodengemisch zu betrachten, während das traubensaure Salz oberhalb von 27° vorzugsweise als Racemverbindung, unterhalb vorzugsweise als Antipodengemisch existieren soll.

Auf diese Verschiedenheit dürfte es auch zurückzuführen sein, daß das Antipodengemisch der Asparagine stets zu aktiven Krystallisationen führt, während, wie der Versuch 2 zeigt, bei dem traubensauren Salz nicht immer die für die aufeinanderfolgende Abscheidung von d- und l-Verbindungen günstigen Bedingungen getroffen werden. Versuch 6 zeigt, daß man auch bei diesem Salz zu fast einheitlichem, höchst drehenden Antipoden gelangen kann. Gerade der Umstand, daß man auch inaktive Krystallisationen erhalten kann, zwingt zur Annahme, daß bei den gelungenen Versuchen der Trennung eine Differenzierung in der Löslichkeit der Komponenten vorhergegangen sein muß. Weiter ist es von Interesse, daß auch bei der Trennung des traubensauren Salzes, der Theorie entsprechend, sich sowohl die Links- als die Rechtsverbindung zuerst abscheiden kann, wenn auch bei der Mehrzahl der Versuche das Linkssalz zuerst zur Abscheidung gelangte.

Von großer Bedeutung ist es endlich, daß bei den gelungenen Trennungen zuerst ein Teil des gelösten Salzes sich aktiv abscheidet, und zwar in zwei nacheinander folgenden entgegengesetzt drehenden Krystallisationen, während der größte Teil inaktiv, in leichter löslicher Form, wahrscheinlich als Racemat in der Mutterlauge zurückbleibt.

In den Fällen, bei denen eine Aktivität nicht erzielt wurde, beginnt die Krystallisation erst bei größerer Konzentration und in anderer Form.

Es muß geschlossen werden, daß die Differenzierung in der Löslichkeit nur partiell, und zwar bei den als freie Antipoden in der Lösung vorhandenen Molekülen stattfindet und der bald größere bald geringere Rest, da er als Racemat vorhanden ist, von der Differenzierung verschont bleibt.

Wie Kipping und Pope[1]) fanden, scheidet sich beim Krystallisieren des gleichen traubensauren Ammoniak-Natriumsalz aus Dextroselösung vorwiegend d-Salz ab.

Unsere Versuche, bei denen aus wässeriger Lösung entweder vorwiegend l- oder d-Salz zur Abscheidung gelangen, beweisen, daß die Dextroselösung bei dem Versuche von Kipping und Pope ohne Bedeutung ist.

van't Hoff schreibt bezüglich des Versuches von Kipping und Pope in der 3. Auflage seiner Broschüre S. 8: „Offenbar spielt hier Ausscheidungsgeschwindigkeit eine Rolle; mit Geschwindigkeit aber hängt Gleichgewicht, das heißt hier Löslichkeit, eng zusammen."

In der nämlichen Weise hängt auch das Gelingen unserer Versuche von der verschiedenen Löslichkeit der beiden Antipoden ab, die aber erst durch den Übergang in relativ isomere Konfigurationen beim Erhitzen erworben wird.

Die Theorie von der relativen Isomerie läßt sich also nicht nur, wie früher gezeigt[2]), mit Erfolg zur Erklärung der drei stereoisomeren, labilen Zimtsäuren von den Schmelzpunkten 42, 58 und 68 und der α- und β-Modifikation der Storax- und Heterozimtsäure, sowie der induzierten molekularen Asymmetrie bei ungesättigten Säuren[3]) heranziehen, sondern sie hat nunmehr auch zu einer, allerdings nicht allgemein anwendbaren Methode der Trennung von d,l-Verbindungen geführt, die uns Aufschluß darüber gibt, wie in der Pflanze ohne Anwendung asymmetrischer Kräfte die ersten optisch-aktiven Körper entstanden sein können.

Wir beabsichtigen noch andere d,l-Verbindungen auf ihre Trennbarkeit nach dieser Methode zu untersuchen.

---

[1]) Journ. Chem. Soc. 73, 606, 1898.

[2]) Diese Zeitschrift 35, 149, 1911.

[3]) Diese Zeitschrift 43, 445, 1912.

Über die Wirkung des diastatischen Ferments auf das Glykogen innerhalb der Zelle.

III. Mitteilung.

Von

Ernst J. Lesser.

(Aus dem Laboratorium der städtischen Krankenanstalten in Mannheim.)

(Eingegangen am 24. Mai 1913.)

In einer früheren Mitteilung[1]) ist gezeigt worden, daß das Fehlen des „postmortalen Glykogenschwundes“ in den Organen des Frosches während der Wintermonate nicht (wie Schiff 1859 lediglich bez. der Froschleber meinte) auf dem Fehlen des diastatischen Fermentes beruht. Es ist vielmehr dadurch verursacht, daß im herausgeschnittenen Organ die Diffusion der in der Zelle befindlichen Diastase zum Glykogen im Winter aufgehoben ist. Dies wurde bewiesen:

1. durch den Nachweis eines sehr starken postmortalen Glykogenschwundes im Sommer (50 % Abnahme in der Leber im Mai in 3 Stunden bei 24° und Sauerstoffdurchströmung);

2. durch den Nachweis eines mindestens gleich starken, meist erheblich stärkeren Glykogenschwundes im Winter nach Zerstörung der morphologischen Struktur durch Frieren und Verreiben der Organe in Porzellanmörser bei einer 0° kaum übersteigenden Temperatur.

Es wurde ferner gezeigt, daß sich diese Verhältnisse nicht etwa nur in der Leber, sondern in allen untersuchten Froschorganen fanden, also im Muskel, ebenso und in gleicher Weise im unreifen mit dem Ovarium entnommenen

---

[1]) Zeitschr. f. Biol. **60**, 371; ferner Münch. med. Wochenschr. **1913**, Nr. 7.

Froschei. Dabei ist der Ausdruck „postmortaler Glykogenschwund“ in dem Sinne gebraucht, daß er die Abnahme des Glykogens in Organen, die der Zirkulation entzogen sind, nach der Herausnahme aus dem soeben getöteten Tiere bezeichnen soll.

Gegen die oben mitgeteilten Versuche scheint nun ein Einwand[1]) möglich zu sein. Es könnte sein, daß in dem herausgenommenen Organ die Diastase nicht innerhalb, sondern außerhalb der Zelle sich befindet; in dem Blute, das in den Blutgefäßen zurückgeblieben ist, oder in der Zwischengewebsflüssigkeit. Das Glykogen hingegen ist in der Zelle eingeschlossen. Zerstöre ich die morphologische Struktur, so bringe ich einen Teil des Glykogens mit dem Blut- oder Lymphfermente zusammen. Dadurch könnte sich vielleicht der postmortale Glykogenschwund nach Zerstörung der morphologischen Struktur auch erklären lassen.

Um die Differenz der herausgeschnittenen Leber im Sommer und im Winter hinsichtlich des postmortalen Glykogenschwunds zu erklären, müßte man dann annehmen, daß die Leberzelle entweder nur im Sommer ein diastatisches Ferment enthält, oder daß die Zellwände im Sommer für die Blutdiastase durchgängig sind, im Winter aber nicht.

Wenn ferner der obenerwähnte Einwand richtig ist, müßte erwartet werden, daß die Zerstörung der Struktur die stärkste Abnahme des Glykogens bei der blutreichen Leber bewirke, die kleinste bei den verhältnismäßig blutarmen Ovarien mit den unreifen Eiern. Das Gegenteil ist der Fall. Das Ovarium mit den unreifen Eiern nimmt nach der Zerstörung der Struktur in 4 Stunden bei 22° um 90 bis 97 % des Anfangsglykogens ab. Die Leber maximal um 60 %, minimal um 9 bis 24 %.

Im folgenden werden einige Versuche mitgeteilt, die die Möglichkeit dieses Einwandes untersuchen sollen. Wenn diese Versuche, obwohl noch nicht vollständig abgeschlossen, bereits jetzt in dieser Zeitschrift publiziert werden, so geschieht dies, weil Bang[2]) am gleichen Orte nahezu gleichzeitig mit mir Beobachtungen veröffentlicht, die die Möglichkeit, die Wirkung der Strukturzerstörung auf ein Zusammenkommen von

---

[1]) Auf die Möglichkeit dieses Einwandes wurde ich durch Herrn Prof. Erwin Voit in München aufmerksam gemacht.

[2]) Bang, diese Zeitschr. 49, S. 40 bis 81.

Blut- oder Lymphdiastase mit vorher in der Zelle eingeschlossenen Glykogen zurückzuführen, zu stützen scheinen. Auf die Kritik von Bangs Versuchen wird unten eingegangen werden. Zunächst seien die neuen von mir angestellten Versuche mitgeteilt, die beweisen, daß die Diastase des Blutes und der Lymphe bei dem Zustandekommen des Glykogenschwunds nach Zerstörung der Struktur keine nachweisbare Rolle spielt.

Da man auch nach längerer Durchspülung von Froschorganen nur schwer den exakten Beweis führen kann:

1. daß diese absolut blutfrei sind,
2. daß durch das längere Durchspülen die Zellen nicht verändert sind

(Austritt von Stoffen aus der Zelle, Ödembildung), so ist das geeignetste Organ für den Nachweis, daß Lymphe und Blut durch ihre Fermente es nicht sind, die das rasche Schwinden des Glykogens nach der Strukturzerstörung bewirken, das an und für sich blutarme Ovarium mit den unreifen Eiern oder das frisch abgesetzte unbefruchtete Froschei.

Ehe ich daher einige Versuche an ausgespülten Lebern bespreche, seien die am Ovarium und Froschei erhaltenen Resultate mitgeteilt. Die Ovarien stellen beim Frosch weite Säcke dar, aus einer sehr zarten, farblosen und durchsichtigen Membran gebildet. In dieser sind nur wenige Gefäße sichtbar, die nach Abtrennung des Fettkörpers etwas Blut entleeren. Die Wandung des Ovariums tritt hinter der Masse der Eier völlig zurück, die bei einem Tiere bis zu 20 und 30 g wiegen können. Der Blutgehalt, soweit man nach der Rotfärbung der wenigen Gefäße urteilen kann, ist ein minimaler. Durch wiederholtes Waschen mit zum Teil stark hypotonischen Lösungen, gegen die das Froschei sehr widerstandsfähig ist, muß es daher gelingen, aus den Ovarien das Blut- und Lymphferment zu entfernen. Die Versuche wurden in folgender Weise angestellt: Die vorher auf Eis gekühlten Tiere wurden dekapitiert und 20 Minuten mit nach unten hängendem Vorderteil aufgehängt. Da das Herz weiter schlägt, muß auf diese Weise ein ziemlicher Teil des Blutes entfernt werden. Dann wurden die Ovarien in der früher mitgeteilten Weise präpariert und gewogen. Unterdessen befanden sich die Kolben mit den Ovarien dauernd in Eis.

Tabelle I.

Nummer und Datum des Versuchs	Art	Vorbehandlung	Intakte Ovarien				Zerkleinerte Ovarien				Abnahme des Glykogengehalts in % des Anfangsglykogens in 4h bei 22 bis 24°		Bemerkungen
			Gewicht		Glykogen in 100 g Ovarium		Gewicht		Glykogen in 100 g Ovarium				
			ante g	post g	ante g	post g	ante g	post g	ante g	post g	Intakte Ovarien	Zerkleinerte Ovarien	
31 9. I. 13	Esculenta	Ungewaschen	28,60	30,15	1,526	1,503	17,56	17,00	0,957	0,130	1,5	86,0	
39 30. I. 13	"	Gewaschen	—	—	—	—	16,05	19,27	1,520	0,120	—	92,0	
41 3. II. 13	"	"	—	—	—	—	17,45	17,54	1,480	0,170	—	80,0	
53 17. III. 13	"	"	—	—	—	—	29,85	37,56	1,690	0,170	—	90,0	
63 21. IV. 13	"	"	—	20,87	—	1,680	—	23,33	—	0,385	—	77,0	Ovarien 5 mal gewaschen, vorher die Wandungen der Ovarien völlig aufgeschnitten. In den beiden letzten Waschwässern Hämoglobinreaktion negativ, ebenso im Brei. Temperatur des Versuchs 16°. Dauer 5h.
52 6. II. 13	Fusca	Ungewaschen	—	—	—	—	19,35	18,60	2,300	1,400	—	39,0	
38 28. I. 13	"	Gewaschen	21,93	25,10	2,280	2,310	—	—	—	—	−1,3	—	
39 30. I. 13	"	"	—	—	—	—	24,35	21,75	2,290	1,710	—	25,0	
41 3. II. 13	"	"	—	—	—	—	21,53	23,75	2,370	1,950	—	17,7	
45 22. II. 13	"	Ungewaschen	25,50	27,65	1,085	1,123	—	22,80	—	0,993	−3,4	11,4	Laich ausgedrückt aus brünstigen ♀. Die Zerkleinerung gelingt nur sehr unvollkommen.
48 20. II. 13	"	"	—	19,70	—	1,040	—	20,30	—	0,735	—	29,4	Laich wie beim vorigen Versuch gewonnen, zerkleinert unter Zusatz von Seesand, zu den intakten Eiern die gleiche Menge Seesand vor der Analyse zugesetzt.
49 6. III. 13	"	"	—	24,05	—	1,160	—	25,40	—	1,030	—	11,2	Wie bei Versuch 48.

Ein Unterschied gegen früher bestand nur darin, daß die Ovarien, bevor sie in die Kolben kamen, so lange auf stets erneuten Fließpapierstückchen hin und her gewendet wurden, bis das Fließpapier vollkommen trocken blieb. Dabei wurde die Wand des Ovariums an verschiedenen Stellen geöffnet. Nunmehr nach Feststellung des Gewichts wurden die Organe 4 mal mit je etwa der $2^1/_2$ fachen Menge abwechselnd Ringer-Lösung und Leitungswasser gewaschen und jedesmal die Waschflüssigkeit durch Dekantieren und sorgfältiges Trocknen mit Fließpapier entfernt; dann wurde durch Frieren in fester Kohlensäure, rasches Auftauen und Verreiben in Porzellanmörser bei möglichst niederer Temperatur ein Zerstören der morphologischen Struktur zu bewirken versucht.

Daß auf diese Weise wirklich blutfreie Organe erhalten wurden, läßt sich dadurch zeigen, daß das letzte Waschwasser, das immer noch trüb ist, keine Hämoglobinreaktion mit Guajactinktur und H_2O_2 mehr gibt. Ebenso gibt der nach Zerkleinerung erhaltene Organbrei diese Reaktion nicht. Die vereinigten Waschwässer gaben mit Jod keine Glykogenreaktion.

Das Ergebnis dieser Versuche zeigt Tabelle I. Versuch 38 beweist zunächst, daß kurzes Waschen mit Ringer-Lösung und Leitungswasser bei 0° die Stabilität des Glykogens bei 4stündigem Verweilen bei 23° in keiner Weise beeinflußt.

Die Zerstörung der Struktur bewirkt aber auch bei diesen gewaschenen und sicher blutfreien Organen, wie bei den früheren Versuchen, ein Verschwinden des Glykogens. Doch zeigen sich sehr bemerkenswerte Differenzen zwischen Rana fusca und R. esculenta. Während bei R. esculenta genau dieselben prozentigen Abnahmen in den gewaschenen Organen wie in den ungewaschenen erzielt werden (gewaschene Ovarien Versuch 39 Abnahme 92%, Versuch 41 Abnahme 80%, Versuch 53 Abnahme 90%; ungewaschenes Organ Nr. 31 86%), zeigt sich bei R. fusca im gewaschenen Organ nur eine Abnahme von 25,3 und 17,7%, während im ungewaschenen Organ in Versuch 42 eine Abnahme um 39% gefunden wird. Es findet sich also in dem gewaschenen Organ eine kleinere, und zwar deutlich kleinere Abnahme als im ungewaschenen. Noch kleiner ist diese in 2 Versuchen an unbe-

fruchteten Eiern, die durch Druck auf den Hinterleib des brünstigen Tieres mit Leichtigkeit zu erhalten sind, während sie in einem dritten Versuch ebenso groß ist. Wie erklären sich diese Differenzen?

Bei auf diese Weise gewonnenen Eiern kann natürlich von anhaftendem Blut- oder Lymphferment keine Rede sein, da sich die Eier beim brünstigen Tier sehr lange in den Ovidukten befinden, in denen sie sich mit einer Gallerthülle umgeben, so daß sie an Gewicht stark zunehmen. Die Eier, die im Januar und Februar 2,3 bis 2,4 % Glykogen enthalten, enthalten daher nach der Ablage nur mehr 1,12 % Glykogen. Auf diese Punkte, die durch die Arbeiten von Nußbaum sowie durch die sehr sorgfältigen Untersuchungen von Bleibtreu und Kato völlig geklärt sind, brauche ich hier nicht weiter einzugehen. Die Gallerthülle, die das Froschei umgibt, macht nun, auch wenn man Quarzsand und Kieselgur zugibt, eine wirkliche Zerstörung der morphologischen Struktur unmöglich. Trotz langen Reibens sind die einzelnen Eier als plattgedrückte schwarze Streifen in der Gallerthülle deutlich zu erkennen, und mit den bisher von mir geübten primitiven Methoden kann man hier nicht weiterkommen. Ich nehme also an, daß die verhältnismäßig geringe Abnahme von nur 18 % (Mittel aus 3 Versuchen) im frischgelegten Froschei von R. fusca darauf zurückzuführen ist, daß die Zerstörung der morphologischen Struktur durch die angewendete Methode nicht in der gleichen Weise bewirkt wird wie bei dem Ovarialei ohne Gallerthülle von R. esculenta. Der Weg, wie diese Frage exakt zu entscheiden ist und hoffentlich binnen eines Jahres endgültig entschieden sein wird, ist der folgende: Man läßt die Eier sofort nach der Ablage (nach gründlichem Waschen in Leitungswasser bei 0°) in fester Kohlensäure frieren und zerkleinert sie mit der von Kossel angegebenen Maschine zur Zerkleinerung gefrorener Organe. Dann muß in den so zerkleinerten Organen gleichfalls ein Glykogenschwund von mindestens 50 % in 4 Stunden bei 22° (und Durchströmung mit Sauerstoff) eintreten. Dieser Punkt indessen soll nur die Differenz in der Größe des postmortalen Glykogenschwundes beim gewaschenen Ovarium von R. fusca und R. esculenta erklären, die auch im ungewaschenen Ovarium Versuch 31 und beispiels-

weise 52 deutlich erkennbar ist. Für den Beweis, daß es nicht das Blut- und Lymphferment ist, das nach Zerstörung der morphologischen Struktur wirksam wird, ist die Tatsache ausreichend, daß durch vorheriges 4 maliges Waschen, so daß die Hämoglobinreaktion im Brei negativ ausfällt, der Glykogenschwund im zerkleinerten Ovarium von R. esculenta ebensowenig beeinflußt wird wie der postmortale Glykogenschwund der zerkleinerten Leber durch Ausspülung des ganzen Frosches nach der Methode des bekannten Cohnheimschen Salzfrosches. Es folgen nunmehr 2 Versuche an Froschleber und -muskel, die an großen ungarischen Esculenten angestellt worden sind, und die beweisen, daß Ausspülung der Tiere nach der Methode des Cohnheimschen Salzfrosches keine Differenzen gegenüber bluthaltigen Organen ergibt.

Die Ergebnisse dieser beiden Versuche zeigt Tabelle II. Versuch 42 wurde mit Lebern von großen ungarischen Fröschen (esculenten) angestellt. Die Tiere waren Anfang November geliefert und in einer außerhalb der Stadt befindlichen, nach den Angaben von Durig hergestellten Froschgrube bis 1 Tag vor Beginn des Versuches aufgehoben worden. Im einzelnen wurde so verfahren:

Die Tiere wurden eine Stunde lang völlig in Eis verpackt. Dann in Rückenlage gefesselt. Nunmehr am lebenden Tier in die Bauchvene eine lange Kanüle eingeführt, deren Öffnung in der Vene möglichst nahe an die Leber herangebracht wurde. Dann wurde mit Ringer-Lösung von 0° bei einem Drucke von 20 bis 30 cm Wasser durchspült, die Bauchvene wurde unterhalb der Einführungsstelle der Kanüle zum Abfluß der Durchströmungsflüssigkeit geöffnet. Die Ringer-Lösung enthielt, wie in allen Versuchen, im Liter 7 g NaCl, 0,2 $CaCl_2$, 0,2 KCl, 0,1 $NaHCO_3$. Nachdem etwa 20 Minuten durchspült war, floß die Flüssigkeit fast ungefärbt ab. Nunmehr wurden die Seitenlymphräume geöffnet, aus denen sich stets reichlich farblose Flüssigkeit entleerte. Die Durchströmung wurde jetzt noch so lange fortgesetzt, bis die große Hautvene, die unterhalb des Brustgürtels in die Seitenmuskulatur des Rumpfes tritt, in einem weiten Bogen abwärts zieht und sich dann wieder kopf-

Tabelle II.

Nummer und Datum des Versuchs	Art	Vorbehandlung	Intakte Organe				Zerkleinerte Organe				Abnahme des Glykogengehalts in $^0/_0$ des Anfangsglykogens in 4h bei 22 bis 24°		Bemerkungen
			Gewicht		Glykogen in 100 g Organ		Gewicht		Glykogen in 100 g Organ		Intakte Organe	Zerkleinerte Organe	
			ante g	post g	ante g	post g	ante g	post g	ante g	post g			
42 6. II. 13	Esculenta ungaria	Von der Bauchvene aus durchströmt	3,92	2,96	7,23	7,86	—	2,89	[7,55]	3,52	− 8,7	+ 53	Seiten- u. Mittellappen der Leber.
40 1. II. 13	do.	do.	—	—	—	—	4,05	a) 2,66	4,58	0	—	a) 100	Seiten- u. Mittellappen der Leber.
								b) 4,48	—	1,65	—	b) 64	Zu b) waren 2 ccm Froschblut, aus dem Herzen von Esculenten gewonnen, zugesetzt.
40 1. II. 13	do.	do.	—	—	—	—	42,0	42,0	0,267	0,162	—	40	Schenkel der gleichen Tiere.

wärts wendet, völlig farblos erschien. Dazu waren $^3/_4$ bis 1 Stunde Durchströmungsdauer nötig. Nun wurde das Tier rasch dekapitiert, das Rückenmark zerstört und die 3 Leberlappen präpariert, der mittlere selbstverständlich unter sorgfältiger Ausschneidung der Gallenblase und des Pankreasansatzes. Die Lappen wurden auf Fließpapier so lange gewendet, bis sie keine Flüssigkeit mehr abgaben. Dabei blieb die austretende Flüssigkeit farblos. Die von 6 Tieren erhaltenen Lappen wogen 3,92, 2,96 und 2,89 g. Nach dem Trocknen auf Fließpapier, das nur wenige Minuten dauerte, kamen die Leberlappen, wie gewöhnlich, sofort in gewogene Kolben, die bis zum eigentlichen Beginn des Versuches in Eis standen. 3,92 g (6 Lappen) wurden sofort auf Glykogen analysiert. Sie enthielten 7,23 $^0/_0$ Glykogen. 6 Lappen im Gewicht von 2,96 g wurden nach 4 stündigem Verweilen in Ringer-Lösung bei 24° und Sauerstoffdurchleitung analysiert, sie enthielten 7,86 $^0/_0$ Glykogen. 2,89 g (6 Lappen) wurden in fester Kohlensäure gefroren und im gekühlten

Mörser zerrieben, dann wie die intakte Leber behandelt. Sie enthielten nach 4 Stunden 3,52 % Glykogen. Es hat also die Ausspülung, die nur Spuren von Blut in der Leber lassen konnte, an der Wirkung der Strukturzerstörung gar nichts geändert. Die postmortale Glykogenabnahme nach Strukturzerstörung beträgt 53 %. Sie ist mithin von gleicher Größenordnung, wie bei der bluthaltigen Leber. Ebenso zeigt dieser Versuch hinsichtlich der Stabilität des Glykogens im intakten Organ genau den gleichen Befund, der mit bluthaltigen Lebern in dieser Jahreszeit erhalten wurde. Das heißt, die Änderung überschreitet die Fehlergrenzen der Bestimmungsmethode nicht. Es findet sich in den intakten Lappen eine scheinbare Zunahme von 8,7 %, während sonst bei der Leber die Differenzen zwischen zwei Gruppen gleich behandelter Leberlappen bei meiner Methodik nur höchstens 3 % betragen. Dabei wurden aber sonst sehr viel größere Lebergewichte benutzt, zwischen mindestens 5 und 6 g, so daß der Wägungsfehler mit 0,05 g nur auf 1 % anzusetzen ist. Da in diesem Versuche die gewogenen Lebern nur 3 bis 4 g betrugen, so erhöhen sich die Wägungsfehler auf etwa das Doppelte. Ferner ist es bei der Durchspülung leicht möglich, daß die einen Lappen etwas mehr Wasser aufnehmen als die anderen. Es ist also die scheinbare Zunahme der intakten Lebern an Glykogen wahrscheinlich auf die im Vergleich zu den früheren Versuchen zu geringen Lebergewichte und die Vorbehandlung mit Durchspülung zu beziehen. Würde es sich um eine wirkliche Neubildung von Glykogen handeln, wie sie beim Frosch in der Restitution nach vorausgegangener Anoxybiose am ganzen Tier in den Sommermonaten von mir nachgewiesen worden ist, so würde diese natürlich nur a fortiori die Wirkung der Strukturzerstörung beweisen.

Versuch 40 verlief in genau derselben Weise. Die Vorbehandlung der Tiere war die gleiche. In diesem Versuche wurden die Mittel- und Seitenlappen zerkleinert, während die andern Seitenlappen zu Beginn des Versuchs analysiert wurden. Der Glykogengehalt der Leber war ein geringerer, da die zu diesem Versuch benutzten Tiere bei einer Durchschnittstemperatur von 10 bis 12° seit 3 Monaten im Laboratorium aufbewahrt waren. Zu den Seitenlappen wurden nach der Zer-

kleinerung 2 ccm Froschblut, das von mehreren anderen Esculenten aus dem Herzen gewonnen war, hinzugesetzt. Würde das Blutferment eine wesentliche Rolle spielen, so war zu erwarten, daß die mit Blut versetzten Lappen erheblich mehr nach der Strukturzerstörung an Glykogen einbüßen würden, als die blutfrei gespülten, ohne Blutzusatz. Das Gegenteil ist der Fall. In den Mittellappen war überhaupt kein Glykogen mehr nachweisbar, die Seitenlappen hatten um 64 % abgenommen. Die Abnahme, die hier durch Strukturzerstörung am gespülten Organ erzielt wurde, ist die größte, die ich überhaupt jemals bekommen habe, sie erreicht, ja überschreitet selbst die am zerkleinerten Froschei erhaltenen Werte. Dies ist wahrscheinlich darauf zurückzuführen, daß bei dem sehr geringen Gewicht der zerkleinerten Mittellappen (2,66 g) die Zerkleinerung eine sehr gründliche war, so daß unverletzte Zellverbände wahrscheinlich überhaupt nicht mehr vorhanden waren. In diesem Versuch wurden auch die zerkleinerten Schenkel in bezug auf den postmortalen Glykogenschwund mit dem unzerkleinerten verglichen. Die intakten Schenkel enthielten 0,267 % Glykogen, die zerkleinerten 0,162 % Glykogen, also eine Abnahme durch Strukturzerstörung von 40 %. Durch diese Versuche scheint mir einwandfrei bewiesen zu sein, daß das Verschwinden des Glykogens nach Zerstörung der groben morphologischen Struktur in derselben Jahreszeit, in der es sich bei den von mir gewählten Versuchsbedingungen im intakten Organ nicht nachweisen läßt, nicht darauf zurückzuführen ist, daß in Blut- und Lymphflüssigkeit Fermente sich befinden, die nach der Zerstörung der Struktur auf das Glykogen einwirken. Diese Fermente müssen sich vielmehr innerhalb der Leber-, Ei- und Muskelzelle befinden. Sie sind im intakten Organ 4 Stunden lang bei 24° und Durchströmung mit Sauerstoff unwirksam, werden aber in dieser Zeit wirksam (und zwar um so stärker, je größer die mechanische Verletzung ist) im zerkleinerten Organ. Ich habe zunächst angenommen, daß innerhalb der Zelle eine räumliche Trennung von Diastase und Glykogen stattfindet, und daß im Winter im herausgenommenen Organ die Diffusion zwischen beiden Stoffen eine minimale ist; durch Zerstörung der Struk-

tur hingegen fällt diese räumliche Trennung innerhalb der Zelle fort. Bisher habe ich noch keine Tatsache gefunden, die dieser Vorstellung widerspricht, wohl aber sind Tatsachen bekannt, die zum Teil in der gleichen Weise bereits gedeutet worden sind, so die Speicherung und Entleerung der Stärke in grünen Blättern bei Tag und Nacht, ferner das Fehlen der Selbstgärung der Hefe unter gewissen Bedingungen, dagegen das Vorhandensein der Selbstgärung der Hefe in der Acetondauerhefe[1]). Auch hier wird eine räumliche Trennung von Diastase und Glykogen in der intakten Hefezelle angenommen, die durch Acetonbehandlung aufgehoben wird. Bei der Hefezelle ist ferner mit Sicherheit nachgewiesen, daß das Glykogen sich nur an bestimmten Orten der Zelle befindet (Vacuolen), keineswegs diffus im Protoplasma der Zelle gelöst ist.

Mit meinen Versuchen scheint im Widerspruch zu stehen, daß Bang angibt (a. a. O. S. 69), „unter zweckmäßigen Versuchsbedingungen entspräche die postmortale Zuckerbildung des Leberbreies der Zuckerbildung der überlebenden Ringerleber". Bangs Untersuchungen über Zuckerbildung in der Leber sind aber nicht geeignet, um über das Verhalten der Diastase etwas aussagen zu können. Der Körper, an dem die Diastasewirkung beginnt, ist das Glykogen, und es ist keineswegs nötig, daß unter den gewählten Bedingungen des Versuches das verschwundene Glykogen völlig in reduzierende Substanz umgewandelt wird, ja es ist dies nicht einmal sehr wahrscheinlich. Versuche, die quantitative Differenzen hinsichtlich der Diastasewirkung aufdecken wollen, müssen daher stets das Verschwinden des Fermentsubstrates (also des Glykogens) beobachten, oder sie müssen sämtliche, während der Diastasewirkung entstehenden Produkte bestimmen, Produkte, die chemisch zum großen Teil ungenügend charakterisiert sind. Das Herausgreifen lediglich der reduzierenden Substanz ist theoretisch nicht begründet. Wohlgemuth hat denn auch bei vergleichenden Diastasebestimmungen das völlige Verschwinden der Stärke (bewiesen durch Versagen der Jodreaktion) mit vollem Recht zur Grundlage seiner Methode ge-

[1]) Vgl. hierzu Buchner und Hahn, Die Zymasegärung S. 69; S. 52 ibid.; ferner Kohl, Die Hefepilze, 1908, S. 44 ff.; Duclaux, Traité de microbiologie 2, S. 74 ff.

macht; allerdings ist er an der Frage, ob die gleichen Verhältnisse innerhalb der Zelle wie in Extrakten vorliegen, vorübergegangen. Daher denn diese Versuche nur das Vorhandensein von Diastase beweisen können, nicht aber ihre Wirksamkeit innerhalb der intakten Zelle; und das ist ein Punkt, auf den beim Vergleichen verschiedener Organe untereinander sehr viel ankommt. Was man gemeinhin „die Regulation des Stoffwechsels" nennt, hängt damit wahrscheinlich in wichtigster Weise zusammen. Viel wichtiger als die absolute Menge der Diastase ist die Frage, wovon es abhängt, daß Diastase in der Zelle wirksam wird.

Bang hat nun neuerdings eine Methode angegeben, die minimale Mengen reduzierender Substanz zu bestimmen gestattet, Mengen, die bei der Verwendung der Glykogenmethode völlig in die Fehlergrenze fallen. Dies bedeutet indessen keinen Vorteil für die Untersuchung der Diastase beim Frosch. Mit der Glykogenmethode werden zwischen den einzelnen Leberlappen Differenzen von höchstens 3 % gefunden, die vollkommen als Fehler der Bestimmungsmethode erklärt sind (Wäge- und Titrationsfehler). Bang hingegen findet bez. des Gehalts an reduzierender Substanz zwischen den einzelnen Lappen Differenzen bis zu 48 % beim selben Tiere, und Lappen verschiedener Tiere zu derselben Jahreszeit geben Differenzen von über 100 % (a. a. O. S. 56). Es bedeutet also in diesem Falle die Anwendung der Mikromethode keinen Vorteil. Auch Bang schreibt der Blut- und Lymphdiastase eine mehr untergeordnete Rolle zu. Er bemüht sich aber nachzuweisen, daß die Zuckerbildung im Brei und im intakten Organ von gleicher Größe sei, und zwar, weil er den Einwand beseitigen will, daß beim „Absterben" des Organs Diastase „gebildet" werde. Indessen findet er auch häufig im Leberbrei nach Entfernung der Blutdiastase eine sehr viel höhere Zuckerbildung (a. a. O. S. 68) als in der intakten Leber. Daß die Verhältnisse bei Bangs Versuchsanordnung nicht so klar hervortreten wie bei der meinigen, hat zwei Gründe: Einmal hat Bang die prinzipielle Differenz zwischen der Sommer- und der Winterleber nicht gefunden, weil er während und kurz nach der Fortpflanzungszeit der Tiere keine Versuche angestellt hat. Seine Versuche fallen sämtlich in die glykogenreiche Periode der Frösche, in die Zeit zwischen September und Februar.

Zweitens aber dauern Bangs Versuche zu lange, nämlich 10 bis 12 Stunden (a. a. O. S. 49) bei Zimmertemperatur (wohl 18° und ohne Gasdurchleitung). Ich habe mehrere Versuche angestellt (im Januar an R. fusca), um festzustellen, wie lange man um diese Jahreszeit den Versuch fortsetzen kann, ohne daß in der intakten Leber ein postmortaler Glygogenschwund sich zeigt. Dabei ergab sich (siehe Tabelle III), daß bei 9stündigem Verweilen in Ringer-Lösung bei 22 bis 24° und Durchleitung von O_2 eine Abnahme des Glykogens um 16 % stattfand, und in einem zweiten Versuche bei 8stündiger Versuchsdauer eine Abnahme um 18,5 %. 14 Tage vorher zeigten Frösche der gleichen Lieferung unter den gleichen Versuchsbedingungen, aber bei nur 4stündigem Versuche, eine Abnahme von 1,6 %, die in den Fehlergrenzen der Versuchsmethode liegt.

Tabelle III.

Nummer u. Datum des Versuchs	Tierart	Dauer des Versuchs Std.	Temperatur des Versuchs °C	Gewicht der Leberlappen		Glykogen in 100 g Leber		Abnahme des Glykogens in % d. Anfangsglykogens	Bemerkungen
				ante g	post g	ante g	post g		
30 4. I. 13	Fusca	4	22—23	7,15	7,08	14,84	14,61	1,6	Lebern ungespült, bluthaltig.
34 20. I. 13	„	8	22	5,18	7,20	13,02	10,62	18,5	„ „ „
32 16. I. 13	„	9	22	7,07	7,06	12,34	10,34	16,2	„ „ „

Bangs Versuche sind also zu lange dauernd. In so langer Zeit findet man auch mit meiner Methode keine Stabilität des Glykogens. Es liegt ihm nun daran, nachzuweisen, daß seine Organe „überlebende“ waren. Der Begriff „überlebendes Organ“ ist nicht streng definierbar. Vielleicht kann man darunter verstehen, daß im herausgeschnittenen Organ gegenüber dem lebenden keine irreversiblen Änderungen vor sich gegangen sind. Als Beweis dafür führt Bang an, daß seine Organe in der gewählten Versuchszeit in Ringer-Lösung im Wassergleichgewicht standen, d. h. also, daß die Durchlässigkeit der Zellwand für Wasser und Salze unverändert war. Es ist sehr wohl möglich, daß dies der Fall ist, daß aber trotzdem im Innern der Zelle irreversible Änderungen vor sich gegangen sind. Wenn man an den herkömmlichen Bezeichnungen festhalten will, so

könnte man in diesem Falle sagen, im Winter ist die Stabilität des Glykogens ein besseres Kriterium dafür, daß ein Organ des Frosches überlebend ist, als die Untersuchung des Wassergleichgewichts in Ringer-Lösung.

Die Verwendung der Mikromethode Bangs ist nun bei der Zuckerbildung der Froschleber auch darum nicht sehr geeignet, weil es unmöglich ist, die Leberlappen zu präparieren, ohne einen kleinen Bruchteil von Leberzellen zu zerstören. In diesen geht dann selbstverständlich ein postmortaler Glykogenschwund infolge der Strukturzerstörung vor sich. Der Zucker, den Bang in der Ringer-Lösung findet, stammt vielleicht nur aus diesem kleinen Bruchteil des Glykogens, das in den bei der Präparation der Leber zerstörten Zellen enthalten war. (Bei meiner Versuchsanordnung liegt diese Größe in den Fehlergrenzen.) Daran liegt es vielleicht, daß Bang die Zuckerbildung in der Leber um so größer findet, absolut genommen, je größer der Glykogengehalt der Leber ist. Die Zahl der bei der Präparation zerstörten Zellen wird nicht so sehr bei den einzelnen Versuchen schwanken. Wächst dagegen ihr Glykogengehalt, so muß von diesen zerstörten Zellen entsprechend mehr Zucker erzeugt werden. Die Annahme Bangs, daß die Membran der Leberzelle des Frosches einsinnig für Traubenzucker durchlässig sei, halte ich daher noch nicht für bewiesen. Die geringen Zuckermengen, die Bang in der Lösung findet, sind wahrscheinlich auf zerstörte Zellen zu beziehen. Wenn man nicht nur die Leber, sondern ebenso auch den Muskel und das Froschei untersuchen würde, die sich ja genau ebenso wie die Leber verhalten, so würde man hier vermutlich sichere Grundlagen finden.

Endlich wäre noch die Versuchsanordnung zu besprechen, mit der Bang nachweist, daß beim Absterben der Leber kein Ferment gebildet wird. Dies geschieht, indem er die Leber blutfrei spült, in einen Überschuß von Alkohol einführt und hier augenblicklich mit einem Pistill zerstößt. Hierdurch wird das Glykogen ausgefällt. Gleichzeitig wird, wie durch die Versuche von Schöndorf und Victorow[1]) bewiesen ist, die Diastase gelähmt, aber nicht zerstört. Es kommt nun darauf an, wie Bang die Entfernung des Alkohols bewirkt hat. Ob dies durch Auswaschen oder Abdestillieren im Vakuum geschehen

[1]) Arch. f. d. ges. Physiol. 116, 495.

ist, in welcher Zeit und bei welcher Temperatur, Bang macht darüber keine näheren Angaben, so daß man nicht entscheiden kann, ob während der nachträglichen Entfernung des Alkohols eine merkliche diastatische Wirkung eingetreten ist, ob ferner dabei Glykogen als solches herausgewaschen worden ist. Andererseits weiß man ebensowenig, ob das durch den Alkohol ausgefällte Glykogen wieder völlig in Lösung gegangen ist.

Ehe die Schlüsse Bangs bezüglich der Bedeutung des Kochsalzes und der Lipoide für die Diastasewirkung einer Nachprüfung unterzogen werden können, ist es nötig, daß angegeben wird, auf welche Weise der Alkohol entfernt wurde und wie nachgewiesen wurde, daß diese Entfernung eine vollständige war, ohne daß während der Entfernung Glykogen ausgewaschen wurde und ohne daß die Diastase, die durch die Strukturzerstörung wirksam geworden war, während dessen Gelegenheit hatte, das Glykogen zu verändern. Ich komme also zu dem Schlusse, die Bangsche Angabe, daß Leberbrei und intakte Leber unter gewissen Bedingungen die gleiche Zuckermenge bilden, läßt keine Schlüsse auf das Wirken der Diastase auf das Glykogen zu. Bei richtig angeordneten Versuchen zeigt sich, daß, gleichgültig ob die Organe bluthaltig, blutfrei oder nahezu blutfrei sind, die Zerstörung der Struktur beim Frosch in den Wintermonaten zur glykogenstabilen Zeit[1]) einen kolossalen Glykogenschwund bewirkt, der mindestens ebenso groß ist, wie der postmortale Glykogenschwund in den intakten Organen im Monat Mai und Juni.

---

[1]) Wie früher (Münch. med. Wochenschr. **1913**, Nr. 7) auseinandergesetzt, unterscheide ich beim Frosch eine glykogenstabile und eine glykogenlabile Zeit, je nachdem, ob im herausgeschnittenen Organ ein postmortaler Glykogenschwund sich nachweisen läßt oder nicht (in 4 Std. bei 22 bis 24°). Zur glykogenlabilen Zeit enthält der frisch gefangene Frosch sehr geringe Glykogenmengen (Minimum 0,2%), eine Beeinflussung durch Anoxybiose ist im herausgeschnittenen Organ deutlich. In der glykogenstabilen Zeit enthält der Frosch sehr große Mengen Glykogen (1,4% Maximum), eine Beeinflussung durch Anoxybiose ist im herausgeschnittenen Organ nicht nachweisbar. Zwischen diesen Extremen im Mai—Juni und im November bis Februar finden sich Übergänge im Frühjahr und im Herbst.

Die Assimilierbarkeit der Maltose durch Hefen.

Von

A. J. Kluyver, Delft (Holland).

(Eingegangen am 9. Juni 1913.)

Im Jahre 1910 erschien eine Dissertation von Ludwig Rose, „Beiträge zur Kenntnis der Organismen im Eichenschleimfluß"[1]), worin u. a. die Ernährungs- und Gärungsphysiologie des Endomyces Magnusii Ludwig eingehend beschrieben wurde. Als merkwürdigstes Resultat wurde mit Recht vom Verfasser hervorgehoben, daß in einer Nährlösung, die geeignete Quantitäten Magnesiumsulfat, Kaliumphosphat und Asparagin enthielt, die Glucose als Kohlenstoffquelle untauglich war, während Maltose sich dazu ganz gut eignete. Dagegen wurde unzweifelhaft nachgewiesen, daß die Glucose recht kräftig vergoren wurde und Maltose höchstens spurenweise.

Nun war schon vor längerer Zeit u. a. von Beyerinck für Saccharomyces ellipsoideus, S. Pastorianus Rees und S. fragrans nachgewiesen, daß Zuckerarten, die nicht gärungsfähig sind, sehr wohl assimilierbar sein können, eine Tatsache, die uns kaum wundern wird, wenn wir bedenken, daß auch Mannit und Glycerin sehr gut als Kohlenstoffquelle dienen können, ohne einer Gärung zu unterliegen.

Bei weitem auffallender im Resultate Roses war der Umstand, daß die Hexosen für die Assimilation nicht geeignet erschienen. Rose machte mehrere Versuche, worin er die Stickstoffquelle änderte und z. B. Pepton, Ammonsulfat, Nitrate u. dgl. benutzte, aber immer mit demselben Erfolge.

Hier hatte man also den Fall, daß ein Pilz eine Zuckerart vergor, aber nicht assimilierte, und eine andere nicht vergor, aber wohl assimilierte, was noch näher von Rose auf elegante Weise demonstriert wurde.

---

[1]) Man sehe die vollständige Veröffentlichung in der Wochenschr. f. Brauerei 27, 525 u. f., 1910.

Er impfte nämlich die obenerwähnten synthetischen Nährlösungen, die resp. Glucose, Maltose und Gemische dieser beiden Zuckerarten enthielten, mit einer sehr geringen Menge des Endomyces und bestimmte nach 10 Tagen die in den Lösungen produzierten Quantitäten Alkohol. Es ergab sich, daß eine bemerkenswerte Quantität nur dort gebildet worden war, wo die beiden Zucker zusammentrafen. In der Lösung, die nur Glucose enthielt, war fast kein Wachstum eingetreten, und da die zugefügte Menge des Pilzes sehr gering war, trat auch nur eine geringe Gärung ein. Die Maltose hingegen hatte wohl eine starke Entwicklung ermöglicht, aber wurde, wie schon oben gesagt, nicht vergoren; in den Mischungen endlich hatte die Maltose das Wachstum bewirkt, während die entstandene Pilzmasse in der Glucose ein geeignetes Gärungssubstrat fand.

Weiter fand Rose, daß der Endomyces in Dextrose-Hefewasser ein gutes Wachstum und dazu selbstverständlich eine kräftige Gärung aufwies, eine Tatsache, die eine mögliche Erklärung in der Annahme finden könnte, daß vorhandenes Glykogen durch Glykogenase u. a. in Maltose gespalten wurde.

Am Schlusse seiner Arbeit betont Rose die Notwendigkeit, andere Organismen auf ähnliche Verhältnisse zu untersuchen.

Dieser Wunsch fand seine Erfüllung durch eine Arbeit von P. Lindner und K. Saito[1]), die die Assimilierbarkeit verschiedener Kohlenhydrate durch verschiedene Hefen prüften.

Die Verfasser gelangen zu Resultaten, die sie wohl als unerwartet deuteten, aber doch vielleicht nicht in ihrem ganzen Umfange würdigten.

Nachdem etwa 1000 Assimilationsversuche beschrieben worden sind, kommen sie u. a. zu folgenden Schlüssen:

1. Maltose ist die zur Assimilation best geeignete Zuckerart, sie wird nur in sehr vereinzelten Fällen entweder gar nicht oder nur spärlich aufgenommen.

2. Glucose und Fructose werden im allgemeinen nur mäßig, nicht selten aber auch überhaupt nicht assimiliert.

3. Der Fall, daß eine Zuckerart kräftig assimiliert, aber nicht vergoren wird, ist häufig.

4. Der Fall, daß eine Zuckerart vergoren, aber nicht assimiliert wird, ist seltener, z. B. vergärt S. Ludwigii kräftig Glucose, Fructose

---

[1]) Wochenschr. f. Brauerei 27, 509, 1910; Nachtrag ebenda 28, 561, 1911.

und Rohrzucker, assimiliert aber keinen von diesen Zuckern; das gleiche gilt von S. exiguus, S. cartilaginosus, Schizosaccharomyces Pombe usw.

5. Die Frage, ob bei Darbietungen anderer Stickstoffquellen bei den erwähnten Versagern Assimilation der betreffenden Zuckerarten eintritt, ist noch eine offene, für den Fall des S. octosporus als sicher anzunehmen.

Neuerdings hat auch G. Kita[1]) bei der Beschreibung einiger neuen Hefearten aus „Ikashiokara" (gesalzenem Tintenfischfleisch) konstatiert, daß in asparagin- oder in ammonsulfathaltender Nährlösung Glucose nicht, wohl aber Maltose assimiliert wurde.

Zwei Tatsachen brachten mich dazu, eine Nachprüfung der obigen Ergebnisse zu unternehmen:

1. Die merkwürdige Erscheinung, daß es Zuckerarten geben sollte, die vorzüglich vergoren werden, jedoch nicht assimilierbar sind. Es schien dabei ausgeschlossen, daß dies zu erklären sei durch das Fehlen anderer für das Wachstum benötigten Elemente, weil andere Zuckerarten in derselben Lösung eine gute Entwicklung ermöglichten. Eine Assimilation ohne Gärung hat, wenn wir an die vielen anderen verwandten Organismen denken, die gar keine Gärung aufweisen, nichts Befremdendes, eine Gärung ohne Assimilation dagegen steht mit den bestehenden Vorstellungen im Widerspruch; so äußert sich z. B. Palladin sehr positiv in seiner „Pflanzenphysiologie": „Die Gärung ist also ein physiologischer Vorgang, der mit einer Vermehrung der Hefezellen zusammenhängt."

2. Daß sowohl bei dem von Rose untersuchten Endomyces Magnusii, als bei vielen von Lindner und Saito studierten Hefenarten, z. B. bei S. exiguus, Schizosacch. Pombe u. v. a. ein Fall vorlag, daß Maltose wohl und Glucose nicht als Nahrung dienen könnte.

Diese letzte Tatsache würde unzweifelhaft allgemein physiologisches Interesse bedingen, worauf ich im folgenden kurz hinweisen möchte.

Abderhalden hat nämlich an der Hand zahlreicher Experimente mit verschiedenen Tieren die Regel aufgestellt, daß alle Nahrung vor dem Aufbau zu zelleigenem Material von den betreffenden Organismen in die einfachsten Bausteine zerlegt wird[2]).

---

[1]) Centralbl. f. Bakt., 2. Abt., 35, 388, 1912.

[2]) Man vgl. z. B. Synthese der Zellbausteine in Pflanze und Tier, Berlin 1912.

Die Beweisführung Abderhaldens kann man in zwei Teile zerlegen:

1. Der direkte Nachweis der Spaltung der zugeführten Nahrung in einfache Bausteine.

2. Eine indirekte Begründung, die Abderhalden wie folgt wiedergibt (l. c., S. 21):

„Wenn die Vorstellung richtig ist, daß z. B. der Abbau der kompliziert gebauten Kohlenhydrate bis zu einfachen und einfachsten Abbaustufen im Darmkanal durchgeführt wird, dann muß es möglich sein, die gesamten Kohlenhydrate in der Nahrung durch Monosaccharide, z. B. durch Traubenzucker zu ersetzen".

Da man natürlich bei einer plötzlichen Unterbrechung der Verdauung niemals einen vollständigen Abbau antreffen wird, betont Abderhalden mit Recht die Überlegenheit der indirekten Beweisführung, und besonders in seinen mühsamen, aber erfolgreichen Untersuchungen in dieser Richtung erblickt er den Beweis für seine These.

Man kann nun die Frage stellen, ob sich dasjenige, was Abderhalden und seine Mitarbeiter für die tierischen Organismen bewiesen haben, auch nicht auf die nicht-autotrophen pflanzlichen Organismen ausdehnen läßt.

Abderhalden schreibt (l. c., S. 100): „Jeder einzelne Organismus hat seine eigenartigen Zellbestandteile und jede Zellart wieder ihr eigenartiges Gepräge. Die einfachste Beobachtung zwingt uns zur Annahme, daß die Nahrungsbestandteile nicht direkt in Körperbestandteile übergehen können. Es muß ein weitgehender Umbau eintreten. Dieser ist nach unseren jetzigen Vorstellungen über chemische Umsetzungen im allgemeinen nur denkbar, wenn wir einen Abbau von kompliziert gebauten, mit charakteristischen Eigenschaften ausgerüsteten Nahrungsstoffen zu indifferenten Bausteinen annehmen", und man ist geneigt, diesen Aussprüchen einen allgemeinen Wert beizumessen und auch für die obenerwähnte Gruppe der pflanzlichen Organismen als richtig anzuerkennen.

Wenn wir jedoch die Frage für diese letzten näher betrachten, dann ergeben sich hier Tatsachen, die mit der Abderhaldenschen Regel nicht übereinzustimmen scheinen. Dies bemerkten z. B. Hans Pringsheim und Géza Zemplén[1]), indem sie für verschiedene Schimmelpilze nachwiesen, daß sie Disaccharide als Kohlenstoffquelle ausnützen, ohne daß es gelingt, die betreffenden hydrolysierenden Enzyme im Preßsaft dieser Pilze aufzufinden. Doch kann man sich hier die Sache immer noch so denken, daß die Spaltung auf irgendeine Weise an die direkte Lebenstätigkeit des Protoplasmas gebunden sei.

Die von Rose und von Lindner und Saito beobachteten Erscheinungen waren dagegen mit der Abderhaldenschen Regel gar nicht in Übereinstimmung zu bringen.

---

[1]) Zeitschr. f. physiol. Chem. 62, 374, 1909.

Denn wenn man für einen Organismus den Nachweis bringen könnte, daß eine Substanz sich als Nahrung bewährte und ihre gesamten Bausteine nicht, da würde durch das Fehlschlagen der indirekten Beweisführung die Gültigkeit der Abderhaldenschen Theorie für solche Organismen entgültig widerlegt sein.

Nach diesen Auseinandersetzungen der Gründe, die mich zur Wiederholung der Versuche veranlaßten, möge die Beschreibung der Experimente folgen.

Erstens wurde von mir untersucht, ob einige der im hiesigen Laboratorium vorhandenen Hefenarten dieselbe Erscheinung zeigten. Hierzu wurden so viel wie möglich dieselben Bedingungen, die Lindner und Saito bei ihren Versuchen wählten, eingehalten.

Es wurde also eine $5^0/_0$ige Lösung resp. von Glukose und Maltose in Hayduckscher Nährflüssigkeit (MgSO$_4$ 0,025$^0/_0$, KH$_2$PO$_4$ 0,5$^0/_0$, Asparagin 0,5$^0/_0$ in Leitungswasser dargestellt, 50 ccm dieser Lösungen in Erlenmeyer-Kölbchen sterilisiert und dann mit einer kleinen Menge der verschiedenen Hefen geimpft. Stets wurden gleiche Quantitäten (0,25 ccm) einer Hefeaufschwemmung in sterilem Wasser (eine Platinöse einer jungen Kultur in $\pm$ 30 ccm Wasser) in je ein Kölbchen mit Glucose und mit Maltose gebracht.

Die Kulturen wurden in den Brutschrank bei 34^0 gestellt und die nach etwa 20 Tagen eingetretene Entwicklung bestimmt.

Lindner und Saito und auch Rose bestimmten den Grad der Entwicklung schätzungsweise und gaben diesen durch die Zahlen 0, 1, 2, 3 wieder; es schien mir wünschenswert, eine genauere zahlenmäßige Bestimmung auszuführen. Daher stellte ich nach der oben angegebenen Zeit das Trockengewicht der Hefenernte fest, indem ich die Kulturflüssigkeit zentrifugierte, wiederholt mit destilliertem Wasser auswusch und jedesmal aufs neue zentrifugierte. Der Rückstand wurde zuerst bei 70^0 und später bei 105^0 bis auf konstantes Gewicht getrocknet.

Die verwendeten Zuckerarten waren wie auch für Lindners und Saitos Versuche von der Firma Kahlbaum bezogen.

In der Tat fand ich nun einige Hefen, die das von diesen Autoren beschriebene Verhalten zeigten:

So fand ich z. B.:

	Glucose mg	Maltose mg
Endomyces Magnusii	8	20
Saccharomyces exiguus[1]) . . .	1	21
Schizosaccharomyces Pombe .	1	61
Lactosehefe[2])	1	72

Wie aus diesen Zahlen hervorgeht, war in den drei letzten Fällen in der glucosehaltigen Lösung kaum eine Entwicklung eingetreten, während die Maltose ein kräftiges Wachstum bewirkt hatte[3]).

Hiermit schien die Richtigkeit der von Lindner und Saito ausgesprochenen besonderen Stellung der Maltose als Assimilationsmaterial für bestimmte Hefen bestätigt.

Ich wiederholte jetzt noch dieselben Versuche, fügte aber außer dem Asparagin jetzt noch 0,1 % Witte-Pepton zu. Es zeigte sich, daß dies keine Änderung der Resultate bewirkte.

Die schönen Untersuchungen von Gabriel Bertrand über den Einfluß sehr kleiner Quantitäten bestimmter Stoffe auf den Grad und die Art der Entwicklung verschiedener Organismen erweckten aber den Gedanken, daß diese günstige Entwicklung in der maltosehaltigen Lösung möglicherweise auf die Anwesenheit kleiner Mengen verunreinigender Substanzen in der Kahlbaumschen Maltose zurückzuführen sei.

Dies hat sich dann als richtig erwiesen.

Denn Maltose, die zweimal nach der Vorschrift von Soxhlet[4]) umkrystallisiert worden war und auch Maltose anderer Herkunft (Merck) zeigte diese Superiorität der Maltose gegenüber der Glucose nicht mehr.

Die folgenden Zahlen wurden unter denselben Bedingungen wie oben erhalten (in peptonfreier Lösung).

---

[1]) Von einer aus der Sammlung der Lehr- und Versuchsanstalt für Brauerei in Berlin stammenden Kultur.

[2]) Aus Milch isoliert, vergärt kräftig Milchzucker, Glucose usw., aber keine Maltose.

[3]) Hier möchte ich noch ausdrücklich bemerken, daß die gewöhnliche Preßhefe, wie zu erwarten war, in der glucosehaltigen Nährlösung vorzüglich wuchs.

[4]) Journ. f. praktische Chem. **21**, 227, 1880.

	Glucose mg	Maltose (Kahlbaum) mg	Maltose (Merck) mg	Maltose gereinigt mg
Endomyces Magnusii . .	1	6	5	0
Sacchar. exiguus	1	42	1	2
Schizosacch. Pombe . .	1	74	6	8
Lactosehefe	1	21	3	1

Gegenüber den hohen Zahlen der Ernte in der ungereinigten Maltose steht also ein sehr beträchtlicher Rückgang nach der Reinigung. Es läßt sich erwarten, daß eine weitere Reinigung die Zahlen bis auf die der Glucose zurückbringen würde. Weil aber hieraus schon zur Genüge hervorgeht, daß die Verunreinigung in der Kahlbaumschen Maltose das gute Wachstum in Lösungen dieser Zuckerart bewirkt, kam mir der weitere Nachweis hiervon überflüssig vor.

Bei der Umkrystallisierung der Maltose in 80 $^0/_0$igen Alkohol schied sich eine geringe, aber deutliche Quantität einer flockigen Substanz ab. Die Vermutung lag nahe, hierin die wachstumfördernde Substanz zu erblicken und nicht, wie in den obenerwähnten Fällen Bertrands, an eine mehr oder weniger katalytische Wirkung eines nur spurenweise vorhandenen Stoffes zu denken.

Es wurde darum untersucht, ob hier nicht vielleicht eine für das Wachstum der betreffenden Hefen besonders geeignete Stickstoffquelle vorlag.

Es zeigte sich, daß die nach der Methode von Kjeldahl bestimmte (auf Eiweiß umgerechnete) Quantität Stickstoff in den drei Zuckerarten merkbar verschieden war.

Gefunden wurde:

Glucose:	Maltose (Kahlbaum):	Maltose (gereinigt):
0,02 $^0/_0$	0,22 $^0/_0$	0,04 $^0/_0$ Eiweiß.

Es ist also sehr wahrscheinlich, daß hierin die Erklärung der Erscheinung liegt.

Auch die in Übereinstimmung mit den Befunden Roses konstatierte Tatsache, daß die Hefen in Glucose-Hefenwasser ebensogut wachsen als in Maltose-Hefenwasser, läßt sich ungezwungen erklären, indem man annimmt, daß das Hefenwasser schon an und für sich eine gute Stickstoffquelle darstellt. Diese Erklärung ist mehr rationell als diejenige Roses, daß die im Hefenwasser anwesenden Kohlenhydrate eine der

Glucose überlegene Kohlenstoffquelle sein würden. Außerdem könnte ich dies noch direkt zeigen, indem ich vergleichende Versuche mit Glucose-Hefenwasser und Hefenwasser für sich anstellte. Gegenüber der trefflichen Entwicklung in Gegenwart von Glucose ergab sich entweder kein oder ein äußerst spärliches Wachstum in Hefenwasser allein.

Die ganze Erscheinung der sparsamen oder fast ganz fehlenden Entwicklung der von mir untersuchten Hefen in der betreffenden synthetischen glucosehaltigen Nährlösung läßt sich also hierauf zurückführen, daß das Asparagin nicht geeignet ist, als einzige Stickstoffquelle zu fungieren.

Als verunreinigende Substanz der Maltose wird man vielleicht an die die Diastase begleitenden Eiweißstoffe denken müssen, da wahrscheinlich bei der Bereitung der Maltose Diastase verwendet worden ist. Heinzelmann[1]) hat nämlich nachgewiesen, daß Diastase direkt als Nährstoff von der Preßhefe aufgezehrt werden kann.

Bekanntlich verhalten sich die Hefenarten, was die Gärung betrifft, den Zuckerarten gegenüber äußerst wählerisch. Hingegen ist schon längst gezeigt worden, daß sehr verschiedene Stoffe sich als Kohlenstoffquelle bei der Assimilation eignen. Es wäre also schon an und für sich nicht wahrscheinlich, daß Zuckerarten, die gärungsfähig sind, unter Zufügung von den anderen benötigten Stoffen nicht als Kohlenstoffmaterial bei der Assimilation werden dienen können.

Die obigen Versuche beweisen die Unrichtigkeit der Schlüsse, die Rose, Lindner und Saito aus ihren Experimenten zogen.

Zugleich wurde gezeigt, daß aus den betreffenden Experimenten nicht, wie es augenscheinlich der Fall war, konkludiert werden darf, daß für einzelne Organismen die Bausteine eines Nährstoffes (im Sinne Abderhaldens) diesem letzteren gegenüber minderwertig sein sollten.

Im Gegenteil muß die Möglichkeit betont werden, daß die Abderhaldensche Regel auch für die heterotrophen pflanzlichen Organismen zutrifft.

Schließlich möchte ich Herrn Professor Dr. G. van Iterson für seine wertvollen Ratschläge meinen aufrichtigsten Dank aussprechen.

[1]) Man vgl. F. G. Kohl, Die Hefepilze, Leipzig 1908, S. 160.

Über die Bildung höherer Alkohole aus Aldehyden durch Hefe. I.

Übergang von Valeraldehyd in Amylalkohol.

Von

C. Neuberg und H. Steenbock.

(Aus der chemischen Abteilung des Tierphysiologischen Instituts der kgl. Landwirtschaftlichen Hochschule zu Berlin.)

Der Vorgang der zuckerfreien Gärungen, den das Ferment Carboxylase auslöst, liefert in erster Phase der Reaktion Aldehyde. Daneben haben nun Neuberg und Kerb in mehreren Fällen eine Bildung von Alkohol nachweisen können. Die erste Beobachtung dieser Art wurde bei Versuchen über die Vergärung von Brenztraubensäure in Gegenwart von Glycerin gemacht[1]).

Zur Erklärung dieses Befundes haben Neuberg und Kerb zwei Möglichkeiten erwogen. Einmal könnte eine Reduktion des erwiesenermaßen bei der Brenztraubensäuregärung auftretenden Acetaldehyds durch die Hefe selbst vorliegen gemäß der von C. J. Lintner und H. J. von Liebig[2]) gemachten wichtigen Entdeckung, derzufolge lebende Hefe in Gegenwart von Zucker Furfurol zu Furfuralkohol reduziert. Zweitens könnte es sich um eine Beteiligung des Glycerins an dem Hydrierungsvorgange handeln.

Schon in dieser ersten Mitteilung haben Neuberg und Kerb vermerkt, daß eine solche Reduktion des Acetaldehyds in Gegenwart von Zucker möglich ist[3]).

---

[1]) C. Neuberg und Joh. Kerb, Zeitschr. f. Gärungsphysiol. 1, 114, 1912.

[2]) C. J. Lintner und H. J. v. Liebig, Zeitschr. f. physiol. Chem. 72, 449, 1911.

[3]) Einige Zeit darauf erschienen die Mitteilungen von S. Kostytschew und E. Hübbenet (Zeitschr. f. physiol. Chem. 79, 359, 1912) und von A. v. Lebedew und N. Griaznoff (Ber. d. Deutsch. chem. Ges. 45, 3263, 1912), denen zufolge lebende und abgetötete Hefe sowie Hefemacerationssaft zugesetzten Acetaldehyd reduzieren können.

Während bei der Vergärung kleiner Mengen Brenztraubensäure eine Bildung von Äthylalkohol nicht erwiesen werden konnte, ist es Neuberg und Kerb neuerdings[1]) bei Verarbeitung großer Mengen von Brenztraubensäure (1 kg) gelungen, überzeugende Mengen von Äthylalkohol zu isolieren.

In analoger Weise haben dieselben Autoren[2]) bei der Vergärung von α-Ketobuttersäure neben Kohlensäure und Propionaldehyd auch Propylalkohol aufgefunden:

$$CH_3.CH_2.CO.COOH \longrightarrow CH_3.CH_2.COH \longrightarrow CH_3.CH_2.CH_2OH.$$

In diesen Beobachtungen schien uns ein Hinweis gegeben, daß allgemein die Bildung von Alkoholen bei Gärungsprozessen sich über die Stufe der Aldehyde vollziehen könne. Zur Prüfung dieser Frage schien das Verhalten höherer Aldehyde zu Hefe besonders geeignet, da der Nachweis höherer Alkohole neben Äthylalkohol analytisch geringe Schwierigkeiten bereitet.

Ein besonders brauchbares und wegen der Beziehung zur Fuselölbildung (siehe später) auch wichtiges Material bildet der Valeraldehyd, dessen Verhalten zu Hefe in Gegenwart und bei Abwesenheit von Zucker wir einer eingehenderen Prüfung unterzogen haben.

Unser Ausgangsmaterial bildete der käufliche Valeraldehyd, der bekanntlich ein Gemisch von Isovaleraldehyd und optisch-aktiven Methyl-äthyl-acetaldehyd darstellt. Derselbe wurde, um ihn sicher von etwa anhaftendem Amylalkohol zu befreien, zuvor noch sorgfältig gereinigt. Zur Verwendung gelangte nur die von 91 bis 94^0 siedende Fraktion.

Von Hefen benutzten wir vorläufig lebendes Material[3]), und zwar verschiedene Ansätze einer obergärigen wie eine untergärige Rasse (Reinzuchthefe XII und Reinzuchthefe K des Instituts für Gärungsgewebe in Berlin).

Bezüglich der Versuchsanordnung schlossen wir uns den Angaben von Lintner und v. Liebig an. Zu dem in Gärung begriffenen Gemisch von Rohrzucker und Hefe ließen wir langsam den unverdünnten Aldehyd tropfen. In einem

[1]) C. Neuberg und Joh. Kerb, Ber. d. Deutsch. chem. Ges. 1913, Heft 10.

[2]) Noch unveröffentlicht.

[3]) Versuche mit abgetöteten Hefen und Hefesäften sind im Gange.

Falle benutzten wir den Valeraldehyd in Form von Valeraldehydammoniak, d. h. ein Gemisch von Aldehyd mit der äquivalenten Menge von n-Ammoniak. Die Zeit, die wir für das Eintropfen des Valeraldehyds in die gärende Zuckerlösung brauchten, schwankte zwischen 40 und 75 Minuten. Die Digestion der Mischungen dauerte 4 bis 6 Tage und geschah in allen Fällen bei Zimmertemperatur.

Zwecks Isolierung der Gärungsprodukte wurde das Gärgut aus großen kupfernen Destillierblasen übergetrieben und in gewohnter Weise fraktioniert.

Die Isolierung des gebildeten Amylalkohols geschah zunächst einfach durch Ausäthern der möglichst angereicherten Destillate und Fraktionierung der scharf getrockneten Ätherextrakte in dem Birektifikator, den G. Heinzelmann beschrieben hat[1]).

Nur mit Hilfe dieses trefflichen Apparates ist die Lösung unserer Aufabe möglich gewesen; denn dieser Apparat gestattet eine nahezu quantitative Trennung von Äthylalkohol und Amylalkohol, wenn das Gemisch zuvor über frisch geglühtem Natriumsulfat und Kupfersulfat völlig getrocknet ist.

Unter Berücksichtigung der im experimentellen Teil beschriebenen quantitativen Kautelen ist es uns nun gelungen, eine auffallend glatte Umwandlung des Valeraldehyds in Amylalkohol zu erzielen, die 84,1 % im besten Falle, 66,4 % im ungünstigsten Falle erreichte.

Aus den angewandten Mengen Zucker und Hefe allein entstanden nur eben nachweisbare Spuren Amylalkohol, wovon wir uns durch Kontrollproben mit unserem Hefenmaterial überzeugten, und wie es nach der großen Literatur über diesen Gegenstand selbstverständlich war. Diese Quantität kann also gänzlich vernachlässigt werden.

Den entstandenen „Amylalkohol“ haben wir in völliger Reinheit zur Wägung gebracht und nur die Fraktion von 127 bis 131 bzw. 132° berücksichtigt. Sie bestand natürlich entsprechend der Zusammensetzung des angewandten Valeraldehyds aus einem Gemisch von Isobutylcarbinol und l-Methyl-äthyl-carbincarbinol, und zwar ergab die optische Kontrolle, daß die beiden Amyl-

---

[1]) G. Heinzelmann, Zeitschr. f. Spiritusindustrie 35, 612, 1912.

alkohole im Gärungsprodukt ungefähr im selben Mischungsverhältnis vorlagen, wie den Komponenten des angewandten Valeraldehyds entsprach[1]).

Hervorgehoben sei, daß die beste Ausbeute in dem Versuch mit Valeraldehydammoniak erzielt worden ist; freilich verfügen wir nur über einen Versuch dieser Art. Jedenfalls zeigt derselbe, daß die Verwendung von Valeraldehydammoniak für die Umwandlung in Amylalkohol nicht ungünstig ist.

Diese reichlichen Ausbeuten an Amylalkohol sind in den Versuchen mit Zuckerzusatz gewonnen. Wesentlich geringer war die erzielte Menge, wenn eine Zugabe von Zucker unterblieb. Immerhin wurde auch hier eine Umwandlung von 26,1 $^0/_0$ erreicht, so daß dabei ebenfalls die Überführung von Valeraldehyd in Amylalkohol durch nicht arbeitende Hefe außer Zweifel ist.

Übrigens haben wir in anderen Fällen von einer Ausätherung des gebildeten Amylalkohols Abstand genommen und ihn durch Kaliumcarbonat abgeschieden, ohne dadurch jedoch eine höhere Ausbeute zu erzielen.

Von vornherein bestehen zwei Möglichkeiten für die Bildung des Amylalkohols aus Valeraldehyd. Einmal kann er nach dem Schema der Cannizzaroschen Reaktion neben Valeriansäure aus dem Valeraldehyd hervorgehen. Zweitens kann er durch direkte Hydrierung des Aldehyds gebildet werden. Die Mengenverhältnisse lassen keine Unsicherheit darüber, daß die letztere Entstehungsart vorwiegend in Betracht kommt; denn die Cannizzarosche Umlagerung könnte höchstens 51,2 $^0/_0$ Amylalkohol liefern.

Im Verhalten zu Aldehyden unterscheidet sich also die Hefezelle von der tierischen, die nach den Versuchen von Parnas[2]) in ausgesprochener Weise die Cannizzarosche Reaktion zu katalysieren vermag.

Eine deutliche Bildung von Säure haben wir allerdings auch beobachten können; doch ist deren Menge gering und vorläufig nicht weiter berücksichtigt. Auch für die Entstehung kleiner Mengen von Kondensationsprodukten haben wir Anhaltspunkte gewonnen.

---

[1]) Auf ein kleines Überwiegen des aktiven Amylalkohols möchten wir keinen Wert legen, da die Drehung des reinen l-Methyl-äthyl-acetaldehyds noch nicht sicher bekannt ist.

[2]) J. Parnas, diese Zeitschr. 28, 274, 1910.

Schon heute sei bemerkt, daß auch beim Isobutylaldehyd, beim Önanthol und beim Zimtaldehyd ähnliche Hydrierungen durch Hefe von Herrn Dr. Ohta und Frl. Dr. Rona beobachtet worden sind. Besonders bemerkenswert ist, daß ebenfalls Formaldehyd, wenn auch in kleiner Menge, zu Methylalkohol reduziert wird. Dieses anscheinend erste Produkt der Assimilation dürfte also von der Pflanze noch auf andere Art als auf dem Wege der Kondensation zu Zucker verarbeitet werden können und auf diese Weise imstande sein, direkt das Material zu den wichtigen Methylierungen zu liefern, wie sie im Stoffwechsel der Vegetabilien vielfach stattfinden.

Die Überführung des Valeraldehyds in Amylalkohol bietet nun noch besonderes Interesse, da Valeraldehyd bei der alkoholischen Gärung von Getreide und Melassemaischen aufgefunden ist[1]). Da überdies Valeraldehyd durch Oxydation von Leucin in einfacher Weise entsteht[2]), und letzteres nach den wichtigen Untersuchungen F. Ehrlichs[3]) die Muttersubstanz des Gärungsamylalkohols ist, so hängen diese Verhältnisse auch mit der alkoholischen Gärung der Aminosäuren zusammen, d. h. mit dem von F. Ehrlich aufgefundenen Übergang von Aminosäuren in die nächst niederen Alkohole. Dieser Prozeß, der bei Gegenwart von viel Zucker durch lebende Hefe geleistet wird, vollzieht sich nach Ehrlich prinzipiell im Sinne der Gleichung:

$$R.CHNH_2.COOH + H_2O = CO_2 + NH_3 + R.CH_2OH,$$

d. h. als hydrolytische Desaminierung unter Kohlensäureloslösung.

Neubauer und Fromherz[4]) konnten nun die bedeutsame Tatsache dartun, daß dieselben Alkohole gleichfalls entstehen, wenn man die den Aminosäuren entsprechenden Ketosäuren gärenden Zuckerlösungen zusetzt. Auch konnten die Autoren in einigen Fällen noch Reste der α-Ketosäure fassen, wenn die Aminosäure als Ausgangsmaterial gedient hatte. Nach Ehrlich

---

[1]) Ordonneau (1888), zit. nach V. Meyer-Jacobson **1**, 715, 1907, und nach Abderhalden, Biochem. Handlex. IV, 557.

[2]) C. Neuberg und F. Blumenthal, Beiträge z. chem. Physiol. u. Pathol. 2, 238, 1902.

[3]) F. Ehrlich, diese Zeitschr. 2, 52, 1906.

[4]) O. Neubauer und K. Fromherz, Zeitschr. f. physiol. Chem. 70, 326, 1911.

und Pistschimuka[1]) ist jedoch der Weg über die Ketosäuren für niedere Organismen keineswegs obligatorisch, da sie für aliphatische und aromatische Amine eine fast quantitative Überführbarkeit in die entsprechenden Alkohole $R.CH_2NH_2 \rightarrow R.CH_2OH$ durch wilde Hefen und Schimmelpilze konstatieren konnten. Sie wollen deshalb auch für die Kulturhefen die Möglichkeit eines solchen Abbaues der Aminosäuren über die Amine nicht ganz von der Hand zu weisen.

Denkbar ist es jedoch, daß auch die biochemische Umwandlung von Aminen in Alkohole nur scheinbar eine glatte hydrolytische Desaminierung darstellt und in Wirklichkeit bei Aminosäuren und Aminen der Weg über die Aldehyde führt.

Das hat Ehrlich (l. c.) für die Aminosäuren schon in Betracht gezogen durch die Formulierung:

α) $R.CHNH_2.COOH + H_2O = NH_3 + R.CHOH.COOH,$

β) $R.CHOH.COOH = H.COOH + R.CHO,$

γ) $R.CHO + H.COOH = CO_2 + R.CH_2OH.$

Man wird diesem Schema heute nach Entdeckung der Carboxylase wohl als gleichberechtigt die Formulierung:

α) $R.CHNH_2.COOH + O = NH_3 + R.CO.COOH,$

β) $R.CO.COOH = CO_2 + R.COH,$

γ) $R.COH + H_2 = R.CH_2OH$

an die Seite stellen dürfen.

Für die Alkoholbildung aus Aminen ergäbe sich das Schema:

α) $R.CH_2NH_2 + O = NH_3 + R.CHO,$

β) $R.CHO + H_2 = R.CH_2OH.$

Durch diese Annahme würde die Differenz zwischen den Anschauungen von Neubauer-Fromherz und von Ehrlich beseitigt sein, indem die Ketosäurenbildung bei den Aminosäuren nur die notwendige Zwischenstufe darstellen würde auf dem Wege zu dem in beiden Fällen zu reduzierenden, also ebenfalls intermediären Aldehyd.

---

[1]) F. Ehrlich und P. Pistschimuka, Ber. d. Deutsch. chem. Ges. **45**, 1006, 1912.

Experimentelles.

Versuch 1.

Vier 3-l-Flaschen wurden mit je 100 g obergäriger Hefe (Rasse XII), 1 l Wasser und 100 g Rohrzucker beschickt. Das Wasser wurde 40° warm eingefüllt, wodurch die Gärung schnell in Gang kam. In jede der vier Flaschen wurde alsdann aus einem Tropftrichter 8,6 g frisch destillierter „Valeraldehyd" (bereitet aus käuflichem Isovaleraldehyd) langsam innerhalb einer Stunde eingetropft. Das Tempo ist so gewählt, daß die Gärung nicht unterbrochen wird. Die ersten einfallenden Tropfen des Aldehyds vermindern deutlich die Kohlensäureproduktion, doch hört dieselbe niemals auf, wenn man durch häufiges Umschütteln für möglichst gute Verteilung bzw. Lösung des Valeraldehyds sorgt. Die im Tropftrichter hängengebliebenen Reste von Valeraldehyd wurden schließlich mit einigen Kubikzentimetern 90%igen Alkohols in die Gärgefäße übergespült. Läßt man die so bereiteten Gemische bei Zimmertemperatur stehen, so kann man nach einigen Stunden eine Abnahme des Aldehydgeruchs wahrnehmen, während allmählich der Geruch nach Amylalkohol auftritt, der namentlich beim schwachen Erwärmen unverkennbar ist. Wir haben die Gemische bei gewöhnlicher Temperatur stehen gelassen bis eine Probe Fehlingsche Lösung nicht mehr reduzierte. Hierzu waren in diesem Falle 5 Tage notwendig. Nach dieser Zeit wurden zunächst zwei der vier Flaschen in eine kupferne Destillierblase übergefüllt und jede mit 100 ccm Wasser nachgespült. Alsdann wurden 1400 ccm abdestilliert. Dieses Destillat, das bereits stark nach Amylalkohol roch, wurde durch erneute Destillation auf 900 ccm gebracht. Durch Eintragen von K_2CO_3 bis zur Sättigung wurde eine aufschwimmende Schicht abgeschieden, die nach einigem Stehen sich klärte und abgehebert wurde. Der Rest wurde mit Äther ausgeschüttelt. Genau ebenso wurden die beiden anderen Flaschen behandelt, und die vereinigten Alkoholschichten und Ätherextrakte wurden sodann mit frisch geglühtem Natriumsulfat 24 Stunden getrocknet. Darauf wurde filtriert, das Glaubersalz mit wasserfreiem Äther nachgewaschen und das Filtrat auf dem Wasserbade vom Äther befreit unter Anwendung eines Glasperlen-Fünfkugelrohrs. Sobald die Temperatur des Übergehenden auf 40° stieg, wurde das Kugelrohr durch den Birektifikator ersetzt. Durch vor-

sichtige und langsame Destillation wurde alles übergetrieben, was bis 80° siedete, das heißt hauptsächlich Äthylalkohol. Da nun die Temperatur ziemlich kontinuierlich bis 100° stieg, so war auf die Anwesenheit von Wasser zu schließen, das bei der einfachen Trocknung größerer Mengen ätherischer Lösung naturgemäß nicht vollständig entfernt werden kann. Wir haben deshalb an dieser Stelle eine neue Trocknung eingeschaltet. Der Birektifikator wurde quantitativ mit wasserfreiem Äther ausgespült und das Gemisch von Äther und Destillationsrückstand mit reichlicher Menge frisch geglühten Kupfersulfats getrocknet. Nach 24stündigem Stehen wurde filtriert, das $CuSO_4$ mit wasserfreiem Äther nachgewaschen und das Filtrat aus dem sorgfältig getrockneten Birektifikator von neuem destilliert. Nach dem Abtreiben des Äthers ging dann abermals eine scharf bei 78° siedende Fraktion über; nunmehr stieg der Thermometer schnell auf 125°. Da die restierende Flüssigkeitsmenge zu gering für eine Destillation aus dem Birektifikator war, so wurde sie möglichst quantitativ, jedoch ohne Nachspülung, in einen Fraktionierkolben übergeführt. Nach einem Vorlauf, bestehend aus wenigen Tropfen einer von 125 bis 127° siedenden Flüssigkeit, ging jetzt eine Fraktion von 127 bis 132° über, deren Hauptmenge unverkennbar zwischen 129 bis 131° lag. Im Kolben hinterblieb eine gelbe, sauer reagierende, unscharf siedende Flüssigkeit, jedoch nur in geringer Menge.

Die von 127 bis 132° aufgefangene Fraktion war typischer Amylalkohol. Ihr Gewicht betrug 23,8 g. Da 34,4 g Valeraldehyd verarbeitet waren, beträgt die Ausbeute 67,6 % der theoretisch möglichen. In Wirklichkeit ist die Ausbeute hier und im folgenden noch höher, da die Fraktionen zwischen 80 bis 127° kleine Mengen Amylalkohol enthalten, da eine absolut quantitative Überführung in den Destillierkolben unmöglich ist und da namentlich die Gärungsgase deutliche Mengen Valeraldehyd verflüchtigen.

Versuch 2.

In genau der gleichen Weise wurde das gärende Gemisch von 200 g Rohrzucker, 2000 ccm Wasser und 200 g Oberhefe XII mit einem Gemenge von 17,2 g Valeraldehyd plus 200 ccm n-Ammoniak versetzt. Auch hier wurden die im Tropf-

trichter verbliebenen Reste mit wenigen Tropfen Alkohol nachgespült. Die weitere Verarbeitung geschah in der gleichen Weise, jedoch ohne Anwendung von Kaliumcarbonat. Dagegen war es wegen der ammoniakalischen Reaktion des ersten Destillats notwendig, die zweite Destillation mit Zusatz von ein wenig H_2SO_4 auszuführen.

An Stelle der Aussalzung wurde einfach mit Äther mehrmals ausgeschüttelt. Die systematische Aufarbeitung ergab 14,8 g Amylalkohol vom Siedepunkt 127 bis 132° oder 84,1 % der Theorie.

Versuch 3.

17,2 g Valeraldehyd wurden in der beschriebenen Weise einem gärenden Gemisch von 200 g Rohrzucker, 2000 ccm Wasser und 200 g untergäriger Hefe K hinzugesetzt. Da nach 24 Stunden noch reichlich Zucker vorhanden, die Gärung jedoch nur schwach war, wurden noch 100 g Hefe K hinzugefügt. Die Verarbeitung (nach 5 Tagen) durch Destillation und Ausätherung ohne Anwendung von Pottasche ergab 14,3 g Amylalkohol (Siedepunkt 127 bis 131°) = 81,2 % der Theorie.

Versuch 4.

300 g Rohrzucker in 3000 ccm Wasser wurden durch 300 g Oberhefe XII in Gärung versetzt. Dazu wurden 25,3 g Valeraldehyd langsam zugetropft. Die Verarbeitung nach 4 tägigem Stehen ergab dieses Mal 17,2 g Amylalkohol oder 66,4 % der Theorie.

Versuch 5.

In genau gleicher Weise wurden 300 g Rohrzucker mit 3000 ccm Wasser und 300 g Oberhefe XII vergoren. Das Gemisch wurde 5 Tage stehen gelassen und dann destilliert; mit Kaliumcarbonat und Äther wurde dann der Alkohol abgetrennt. Die Fraktionierung in der beschriebenen Weise ergab überhaupt keine über 100° siedende Fraktion. In den letzten übergehenden Tropfen ließ sich ein Gehalt an Amylalkohol nur durch den Geruch des Verdunstungsrückstandes nachweisen. Ausbeute 0.

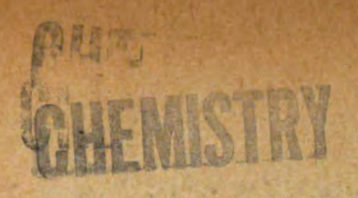
Versuch 6.

100 g Hefe XII wurden in 1 l Wasser suspendiert und ohne Zugabe von Zucker mit 8,6 g Valeraldehyd versetzt. Nach 6 tägigem Stehen und häufigem Umschütteln war der Geruch nach Valeraldehyd nicht verschwunden. Trotzdem wurde destilliert, 700 ccm wurden aufgefangen. Diese wurden sukzessive mit 800 ccm Äther ausgeschüttelt und die abgeschiedenen Ätherextrakte vereinigt. An der Fünfkugelkolonne wurden ungefähr 500 ccm Äther abgetrieben und der Rückstand, der reichlich unveränderten Valeraldehyd enthielt, mehrmals mit Natriumbisulfitlösung durchgeschüttelt. Nach Abtrennung der wässerigen Schichten wurde die ätherische Lösung über frisch geglühtem Na_2SO_4 getrocknet. Die weitere Verarbeitung im Birektifikator bzw. im Destillationskölbchen ergab 2,3 g Amylalkohol vom Siedepunkt 127 bis 131°. In diesem Falle war eine reichlichere Menge höher siedenden Rückstandes vorhanden, die nicht näher untersucht worden ist. Die Ausbeute an Amylalkohol betrug in dieser Probe 26,1%.

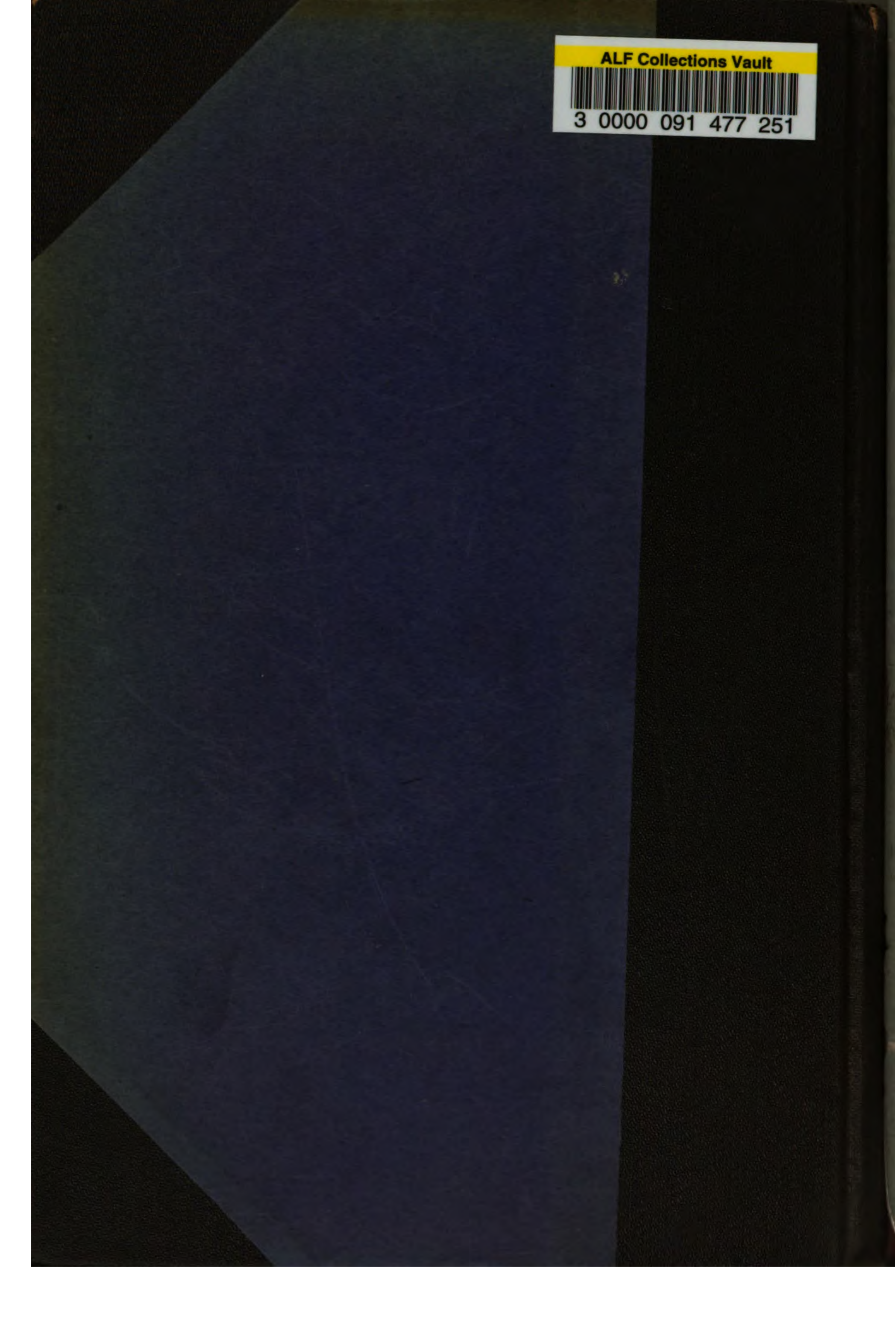
Es sei nochmals betont, daß nur bei sorgfältigem Arbeiten und bei Benutzung des Birektifikators die angegebenen Ausbeuten erreicht werden.

Der ganze Vorgang verdient als ein von der Zelle geleisteter, sehr glatt verlaufender Reduktionsprozeß Beachtung.

Autorenverzeichnis.




[redacted]


ALF Collections Vault
3 0000 091 477 251